

UNTERSUCHUNGEN ÜBER
DIE DIABETOGENE WIRKUNG
VON STREPTOZOTOCIN
BEI ZWERGZIEGEN

Thomas Peruche

1981

Aus dem Institut für Physiologie, Physiologische Chemie
und Ernährungsphysiologie, Tierärztliche Fakultät
der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. D. Giesecke

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE DIABETOGENE WIRKUNG VON
STREPTOZOTOCIN BEI ZWERGZIEGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Thomas Peruche
aus
Boppard

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. v. Sandersleben
Referent: Prof. Dr. D. Giesecke
Korreferent: Prof. Dr. W. Kraft

Tag der Promotion: 24. Juli 1981



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
1.1 Besonderheiten des Kohlenhydratstoffwechsels der Wiederkäuer	1
1.2 Induzierung von Diabetes mellitus durch Alloxan	5
1.3 Induzierung von Diabetes mellitus durch Streptozotocin (Szn)	6
1.4 Problemstellung	9
2. MATERIAL UND METHODEN	11
2.1. Versuchstiere, Haltung und Fütterung	11
2.2. Versuchsablauf	11
2.2.1. Intravenöser Glucose-Toleranz-Test (IVGTT)	13
2.2.2. Vorversuche an Schafen zur Ermittlung einer diabetogenen Szn-Mindestdosis	13
2.2.3. Induzierung verschieden schwerer diabetischer Zustände durch Szn-Injektionen bei Zwergziegen	14
2.3. Probengewinnung, -konservierung und -verarbeitung	15
2.3.1. Blutproben	15
2.3.2. Harnproben	16
2.3.3. Klinische Untersuchungen	16
2.4. Analytische Methoden	17
2.4.1. Enzymatische Bestimmung von Glucose	17
2.4.2. Enzymatische Bestimmung von L(+)-Lactat	17
2.4.3. Enzymatische Bestimmung von D(-)-3-Hydroxybutyrat	18
2.4.4. Enzymatische Bestimmung von Acetoacetat	18
2.5. Injektionslösungen	19
2.5.1. Streptozotocin (Szn)	19
2.5.2. Alloxan	19
2.6. Statistische Methoden	20
3. ERGEBNISSE	21
3.1. Glucose, Lactat, 3-Hydroxybutyrat und Acetoacetat im Blutplasma von Zwergziegen bei physiologischer Stoffwechsellage	21
3.1.1. Einfluß der Tageszeit auf die Konzentrationsverläufe	21
3.1.2. Tagesmittelwerte von Glucose, Lactat, 3-Hydroxybutyrat und Acetoacetat und Varianzursachen	31
3.2. Intravenöser Glucosetoleranztest (IVGTT) bei Zwergziegen und Schafen unter Normalbedingungen	35
3.3. Vorversuche an Schafen zur Ermittlung einer diabetogenen Mindestdosis Streptozotocin	37
3.4. Auswirkung verschieden hoher Szn-Dosierungen auf die Energiestoffwechsellage von Zwergziegen	41

3.4.1.	Kurz- und langfristige Änderungen im Konzentrationsverlauf von Glucose, Lactat, 3-Hydroxybutyrat und Acetoacetat	41
3.4.2.	Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Szn und Plasmaglucose	45
3.4.3.	Beziehungen zwischen diabetischer Hyperglycämie und der Höhe der Ketonkörperspiegel	45
3.4.4.	Intravenöser Glucosetoleranztest zur Abgrenzung des Normalzustandes vom "milden" Diabetes mellitus	47
3.4.5.	Verluste von Glucose über den Harn	50
3.5.	Längerfristige Auswirkungen des "diabetischen" Zustandes auf Körpergewicht und Gesundheit der Tiere	50
4.	DISKUSSION	55
4.1.	Normalwerte bei der Zwergziege	55
4.2.	Streptozotocin (Szn) zur Induzierung eines experimentellen Diabetes bei Zwergziegen	57
4.3.	Auswirkungen des diabetischen Zustandes auf die Stoffwechsellaage	59
5.	ZUSAMMENFASSUNG	62
	SUMMARY	64
6.	TABELLENANHANG	65
7.	LITERATURVERZEICHNIS	79

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Anhand der Besonderheiten im Kohlenhydratstoffwechsel der Wiederkäuer soll die Anfälligkeit von Rind und Schaf unter besonderen Belastungen, wie der Hochlaktation und der Mehrlingsträchtigkeit, für Stoffwechselentgleisungen wie der Ketose aufgeführt, und die Möglichkeit experimentell einen ähnlichen Zustand zu erzeugen erörtert werden.

1.1. Besonderheiten des Kohlenhydratstoffwechsels der Wiederkäuer

Der Glucosestoffwechsel des erwachsenen Wiederkäuers unterscheidet sich in mancherlei Hinsicht von dem anderer Haussäugetiere. Bei Tieren mit einhöhligen Magen z. B. werden Nahrungskohlenhydrate im Verdauungstrakt zu Glucose und anderen einfachen Zuckern gespalten und stellen so nach ihrer Resorption die hauptsächliche Glucose-Quelle für den Organismus dar. Diese Zustandsbeschreibung trifft weitgehend auch für das wenige Wochen alte Lamm bzw. Kalb zu, solange es ausschließlich mit Milch ernährt wird (PORTER, 1969).

Beim mit Rauhfutter gefütterten Wiederkäuer dagegen stehen keine Monosaccharide als solche zur direkten Resorption zur Verfügung, denn die gesamten Nahrungskohlenhydrate werden vorher im funktionell entwickelten Pansen mikrobiell zu flüchtigen Fettsäuren, Methan und CO_2 abgebaut. Essig-, Propion- und Buttersäure in einem ungefähren molaren Verhältnis von 70:20:10 sind dabei mengenmäßig die wichtigsten Fettsäuren (ANNISON und ARMSTRONG, 1970). Ihr absolutes Verhältnis hängt von der Diät und von den Mikroorganismen des Pansens ab. Bei metabolischer Verwertung sind die freien Fettsäuren in der Lage rund 70 - 80 % des Energiebedarfs im Wiederkäuerorganismus zu decken.

Gluconeogenese ist folglich für den Wiederkäuer ein Prozeß von permanenter Wichtigkeit und beträchtlicher Intensität.

Die Wiederkäuerleber entläßt Glucose sowohl im Fütterungs- wie auch im Fastenzustand. Die massivste Glucoseproduktion erfolgt jedoch in der Regel unmittelbar nach dem Füttern (ANNISON und WHITE, 1961; KATZ und BERGMAN, 1969). Eine ausreichende und rasche Zufuhr von Glucosevorstufen und die Funktionsfähigkeit der Syntheseorgane Leber und Niere ist eine notwendige Voraussetzung für die Produktivität.

Bei der laktierenden Kuh beträgt die Glucoseaufnahme des Euters je nach Leistung zwischen 0.5 und 1.5 g/min (BICKERSTAFF u. Mitarbeiter, 1974; ANNISON u. Mitarbeiter, 1974). Beim graviden Schaf werden gegen Ende der Trächtigkeit rund 55 - 75 mg/min an Uterus und Fetus abgegeben (CHRISTENSON u. PRIOR, 1978). In beiden Fällen entspricht dies rund 50 - 90 % des auf das jeweilige Tier bezogenen Gesamtglucoseumsatzes. Es ist also nicht verwunderlich, daß in solchen Situationen Auswirkungen, wie ein Abfall der Glucose und ein Anstieg der Ketonkörper im Blut auf die Energiestoffwechsellaage sichtbar werden (Tab. 1), die bei zusätzlicher inadäquater nutritiver Versorgung und/oder bei endokriner Fehlregulation zu Stoffwechselkrankheiten wie der Ketose (Tab. 1) führen können. Derartige Veränderungen der Stoffwechsellaage unter Produktionsbedingungen sind gerade heutzutage von besonderem wissenschaftlichen Interesse. Bei unserer ausgeprägten Zucht und Selektion auf Leistung steht und fällt die Wirtschaftlichkeit von Hochleistungstieren mit dem rechtzeitigen Erkennen und dem raschen Überwinden derartiger Stoffwechselveränderungen. Zum anderen gibt es noch viele ungeklärte Fragen der metabolischen Stoffwechselregulation beim Wiederkäuer, die sich nur sehr schwer unter Normalbedingungen angehen lassen und die unter Einbeziehung von solchen extremen Stoffwechselsituationen experimentell erfolgreicher bearbeitet werden könnten. Da einige Autoren (REID, 1960; REID u. Mitarb., 1963; HOVE u. BLOM, 1976; BAIRD, 1977; KRONFELD, 1977; LOMAX u. Mitarb., 1979) die Stoffwechselsituation bei einer Ketose mit negativer Energiebilanz mit hohen Lipolyse- und Ketogeneseraten, hohem Glucoseturnover bei reduzierter Glucose-

Tabelle 1a: Metabolitkonzentration und Insulinspiegel im Plasma beim Hauswiederkäuer in Abhängigkeit vom Stoffwechselzustand (RIND)

Stoffwechselzustand	Stoffwechselfparameter					Insulin (μ U/ml)	Autor
	Glucose	Lactat	β -HB*	AcAc**	Gesamt- ketonk.	β -HB AcAc	
	(m m o l / l)						
nicht laktierend	6	2.85	0.82	0.25	0.011	0.26	22.7
laktierend							1
a) klin. normal (Tage p.p.***)							
1 - 20	24	2.07				8.8	3
21 - 40	24	2.26				10.3	3
41 - 56	24	2.40				11.9	3
10 - 240	6	3.05	0.94	0.54	0.030	0.57	18.0
b) ketotisch							
90 Tage p.p.	33	1.63	0.28	0.070	0.98	4.0	2
	5	2.82		0.140			4

* = β -Hydroxybutyrat; ** = Acetoacetat; *** = post partum
 Autoren: (1) BAIRD u. HEITZMAN, 1969; (2) BACH u. HIBBITT, 1958; (3) SMITH u. Mitarb., 1975;
 (4) HOVE, 1974.

Tabelle 1b: Metabolitkonzentration und Insulinspiegel im Plasma beim Hauswiederkäuer in Abhängigkeit vom Stoffwechselzustand (SCHAF)

Stoffwechselzustand	n*	Stoffwechselfparameter			Insulin (ng/ml)	Autor
		Glucose	Acetoacetat	Gesamt- ketonk.		
nicht trächtig	5	3.30		0.03		7
	5	3.44		0.03		8
	4	3.83				9
trächtig (Zwill.)						
a) klin.normal						
8 Wochen a.p.**	4	3.60	0.003		0.625	6
1 Woche a.p.	4	3.10	0.012		0.320	6
	4	3.52		0.05		10
b) ketotisch						
1 Woche a.p.	12	1.64		0.24		7
	4	2.67		0.26		10
laktierend						
20 Tage	4	3.11		0.07		8
30 Tage	4	3.33		0.06		8
70 Tage	4	3.39		0.03		8

* = Tierzahl; ** = ante partum; Autoren: (6) HOVE u. BLOM, 1976; (7) BERGMAN u. HOGUE, 1967; (9) STEEL u. LENG, 1973; (10) FORD u. LINDSAY, 1964;

utilisierung; erniedrigter basaler (s. Tab. 1) und schlechter provozierbarer Insulinsekretion sowie einer Hyperaktivität der Nebennierenrinde den Erscheinungen bei einem Diabetes mellitus vergleichen, bietet sich die Möglichkeit an, einen Diabetes mellitus experimentell zu erzeugen.

Von zahllosen Versuchen an verschiedensten Laboratoriumstieren und einigen wenigen Versuchen an Haussäugetieren ist bekannt, daß Diabetes mellitus über eine selektive irreversible Schädigung der β -Zellen des Pankreas durch die Injektion bestimmter Chemikalien, wie z. B. Alloxan oder neuerdings auch Streptozotocin (Szn) erzielt werden kann. Der große Vorteil eines derartig induzierten Diabetes mellitus lag bei vielen, jedoch nicht bei allen bisher untersuchten Tierspezies darin, daß zumindest bei Szn dosisabhängig eine gewisse Variabilität hinsichtlich des Schweregrades des Diabetes mellitus und seiner Stoffwechselveränderungen erzielt werden konnte. Im einzelnen liegen hinsichtlich der Verwendbarkeit von Alloxan und Szn als diabetogene Agentien bei verschiedenen Säugetierspezies sowie hinsichtlich der dadurch induzierten Stoffwechselveränderungen die im folgenden wiedergegebenen Erfahrungen vor.

1.2. Induzierung von Diabetes mellitus durch Alloxan

Seit der zufälligen Entdeckung der blutzuckersteigernden Wirkung von Alloxan durch JAKOBS (1937) und der von DUNN und Mitarbeiter (1943) beschriebenen Zerstörung der β -Zellen des Inselapparates des Pankreas, wurde diese Substanz zur Erzeugung eines experimentellen Diabetes mellitus bei verschiedenen Laboratoriumstieren wie dem Hund (LIU u. SPITZER, 1978), dem Kaninchen (WELLMANN u. Mitarbeiter, 1967; ZALESKI u. BRYLA, 1978), der Ratte (STEINER u. Mitarbeiter, 1961; ROSSINI u. Mitarbeiter, 1975; LAZAROW u. PALAY, 1946), der Maus LOGOTHETOPCULOS u. BROSKY, 1968), dem Schwein (ROMSOS u. Mitarb., 1971),

ferner bei kleinen Wiederkäuern wie der Ziege (SCHWALM u. SCHULTZ, 1975) und dem Schaf (REID u. Mitarb., 1963; SNOSWELL u. KOUNDAKJIAN, 1972; JARRETT u. Mitarbeiter, 1974; LEE u. DOWNING, 1979) genutzt.

Bei kritischer Betrachtung und Bewertung der jeweils beschriebenen Auswirkungen zeigte sich, daß es bei all diesen Säugertierspezies zwar möglich war, mit dieser Verbindung einen mehr oder minder deutlichen Insulinmangel mit allen sich daraus für den Stoffwechsel ergebenden Konsequenzen hervorzurufen, daß aber auch gleichzeitig der Nachteil starker toxischer Nebenwirkungen in Kauf genommen werden mußte. Untersuchungen an Ratten (LAZAROW u. PALAY, 1946; STEINER u. Mitarb., 1961; ROSSINI u. Mitarb., 1975) und Hunden (LIU u. SPITZER, 1978) hatten nämlich ergeben, daß die für die Zerstörung der β -Zellen im Langerhans'schen Inselapparat nötige Dosis die Zellen anderer Organe mitschädigte (FRERICHS u. CREUTZFELD, 1969). Besonders betroffen waren hierbei Leber und Niere. In der Leber fielen histologisch degenerative Verfettung und Nekrosen auf (LAZAROW u. PALAY, 1946; CREUTZFELD, 1949; HOUSE, 1958). In der Niere kam es vorwiegend in den Epithelien der Tubuli zu trüber Schwellung mit Vakuolisierung und Tubulusnekrosen (DUFF, 1945; LUKENS, 1948).

Die Folge derartiger Nebenwirkungen zusätzlich zum Diabetes mellitus war, daß aufgrund dieser beschriebenen Schädigungen ein großer Prozentsatz der mit Alloxan behandelten Tiere innerhalb weniger Tage nach Applikation verstarb. Dies läßt diese Verbindung nicht geeignet erscheinen, ein längerfristig (Wochen - Monate) zu nutzendes Diabetes-Modell zu erzeugen.

1.3. Induzierung von Diabetes mellitus durch Streptozotocin

Eine weitere relativ neue Verbindung, deren zerstörende Wirkung auf β -Zellen bei seiner Verwendung als Cytostatikum bei Pankreastumoren 1960 von HERR und Mitarbeitern entdeckt wurde, ist Streptozotocin (3zn). Dieses Breitspektrumanti-

biotikum, welches zuerst aus *Streptomyces acromogenes* isoliert und nach Aufklärung seiner Struktur - N-nitroso-Harnstoffderivat von Desoxyglucose - (HERR u. Mitarbeiter, 1967; HESSLER u. JAHNKE, 1970) synthetisierbar wurde, besitzt eine hohe Affinität zu den β -Zellen des Pankreas und schädigt diese irreversibel. Diese diabetogene Wirkung wurde erstmals an Ratten und Hunden (RAKIETEN u. Mitarbeiter, 1963), später auch an Mäusen (EVANS u. Mitarbeiter, 1965; SCHEIN u. Mitarbeiter, 1967; LOGOTHETOPOULOS u. BROSKY, 1968), Hamstern (LITTLE, 1966) und Rhesusaffen (PITKIN u. REYNOLDS, 1970) beschrieben. Dagegen war es bei Kaninchen nicht (KUSHNER u. Mitarbeiter, 1969) und bei Meerschweinchen nicht immer möglich einen Szn-Diabetes zu induzieren (KUSHNER u. Mitarbeiter, 1969; HOWELL u. WHITFIELD, 1972). Von anderen Versuchstierspezies z. B. dem Wiederkäuer liegen bis dato noch keine Angaben über eine diabetogene Wirksamkeit vor. Nach Meinung der Autoren KUSHNER und Mitarbeiter (1969) blockiert Szn in den β -Zellen die Synthese von Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid aus Nicotinamid, aber nicht aus Nicotinsäure. Möglicherweise läuft bei Kaninchen und Meerschweinchen die Synthese von NAD im Gegensatz zu anderen Tierarten über die Vorstufe Nicotinsäure. Bei Mäusen z. B. wird nach GUNNARSON und Mitarbeiter (1974) durch eine Szn-Injektion (200 mg Szn/kg Körpergewicht) die NAD-Konzentration in den β -Zellen bis auf 10 % der Werte bei den Kontrolltieren herabgesetzt.

DULIN u. WYSE (1969), JUNOD und Mitarbeiter (1969) und TJÄLVE und WILLANDER (1976) beschreiben eine Möglichkeit die diabetogene Wirkung von Szn durch die Injektion von Nicotinamid unmittelbar vor bzw. innerhalb der ersten zwei Stunden nach der Szn-Applikation zu blockieren. Nicotinsäure wiederum erfüllt diese Wirkung nicht. Sind bereits drei Stunden seit der Szn-Injektion vergangen, so ist eine Aufhebung der spezifischen β -Zell-Wirkung nicht mehr möglich (HOWELL u. WHITFIELD, 1972), da die Membranen des endoplasmatischen Retikulum bereits zerstört sind.

Histologische Untersuchungen an Ratten (RAKIETEN u. Mitarbeiter, 1963; ARISON u. Mitarbeiter, 1967; JUNOD u. Mitar-

beiter, 1967), sowie an Meerschweinchen (HOWELL u. WHITFIELD, 1972) und Mäusen (BROSKY u. LOGOTHETOPOULOS, 1969) haben gezeigt, daß Szn nur an den β -Zellen der Langerhans'schen Inseln zu degenerativen Veränderungen führt. Schädigungen der α -Zellen wie auch des exokrinen Pankreas wurden nicht beobachtet. Ebensowenig konnten in Leber, Niere und anderen Organen akute Schädigungen festgestellt werden (JUNOD u. Mitarbeiter, 1967; BROSKY u. LOGOTHETOPOULOS, 1969).

Außer dem offensichtlichen Fehlen von toxischen Nebenwirkungen bietet Szn gegenüber Alloxan noch den weiteren Vorteil der geringeren Regenerationstendenz der zerstörten β -Zellen. Selbst nach Gaben geringer Dosen (25 mg/kg KG), die nur einen "milden" Diabetes zur Folge hatten, kam es bei Ratten auch nach 28 Tagen noch zu keiner Verminderung der Hyperglycämie und zu keiner Zunahme des Insulingehaltes im Pankreas (JUNOD u. Mitarbeiter, 1969). Auch war die mitotische Aktivität der β -Zellen im Pankreas von Mäusen, die den zytotoxischen Effekt überlebt hatten, nach Gabe von Szn geringer als nach Gabe von Alloxan (LOGOTHETOPOULOS u. BROSKY, 1968).

Auch in anderer Hinsicht scheint Szn dem Alloxan überlegen zu sein. So zeigen Untersuchungen von HAACKE (1969), JUNOD u. Mitarbeiter (1969) sowie GANDA u. Mitarbeiter (1976) an Ratten, daß der Schweregrad des Diabetes abhängig von der injizierten Szn-Menge über einen weiten Bereich variiert werden kann. In deutlicher Abhängigkeit von der injizierten Dosis (Bereich: 25 - 100 mg/kg KG) waren spezifische Veränderungen der Glucosekonzentrationen im Blut wie auch des Insulingehaltes im Serum und in der Bauchspeicheldrüse festzustellen.

1.4. Problemstellung

Ausgehend von den möglichen Stoffwechselveränderungen bei Kühen während der Hochlaktation bzw. bei Schafen während der Mehrlingsträchtigkeit und der Möglichkeit eine vergleichbare Stoffwechselsituation experimentell zu erzeugen, sollte in der vorliegenden Arbeit geprüft werden, inwieweit Szn geeignet ist, bei Wiederkäuern Diabetes mellitus in wiederholbarer Weise zu induzieren. Dabei sollte insbesondere geprüft werden, inwieweit eine möglichst weite Variation der so induzierten diabetischen Stoffwechsellage in Abhängigkeit von der Szn-Dosis zu erzielen ist und wie beständig sich diese Stoffwechsellagen auch noch Wochen bzw. Monate nach der Szn-Applikation erweisen. Wegen der Irreversibilität der Szn-Wirkung - Wiederholungen an demselben Tier sind nicht möglich - setzt dies eine ausreichende Anzahl von Versuchstieren voraus. Beschrieben werden sollte der jeweilige Stoffwechselzustand anhand von Konzentrationsveränderungen bestimmter, analytisch leicht zugänglicher Metabolite im Blut. Aufgrund von Hinweisen aus der Literatur boten sich dazu neben Glucose und Lactat vor allem die Ketonkörper β -Hydroxybutyrat und Acetoacetat an. Messungen des insulinabhängigen Glucosekatabolismus mit Hilfe des intravenösen Glucose-Toleranz-Testes, das Erfassen möglicher Glucoseverluste im Harn sowie Körpergewichtskontrollen sollten das jeweilige Bild hinsichtlich des Ausmaßes seiner negativen Energiebilanz ergänzen. Außerdem sollten parallel zur erwähnten Analytik bei jedem Versuchstier auch der jeweilige Gesundheitszustand anhand bestimmter klinischer Untersuchungen erfaßt werden.

Aus ökonomischen Gründen und wegen Strahlenschutzmaßnahmen bei Radioisotopenversuchen, für welche die Tiere ebenfalls herangezogen wurden, sollten als Versuchstiere für die geplanten Untersuchungen möglichst kleine Wiederkäuer Verwendung finden. Wegen der bisher guten Erfahrungen mit Ziegen hinsichtlich Trainierbar-

keit und Gewöhnung an Versuchshandhabung am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie, München, fiel die Wahl auf Zwergziegen. Bei dieser Ziegenart handelt es sich um afrikanische Zwergformen unserer Hausziegen, die auf Trypanosomenresistenz und Widerstandsfähigkeit in tropischem Klima gezüchtet worden sind (WIESNER, 1981). Sie erreichen nach abgeschlossenem Wachstum ein Gewicht von 15 - 30 kg.

Wegen der Möglichkeit zyklusbedingter Schwankungen im Stoffwechsel weiblicher Tiere wurden für die vorgesehenen Experimente nur männliche, zur Ausschaltung von Aggressivität und Geruchsbelästigung kastrierte* Tiere verwendet.

Da von Zwergziegen bisher wenig physiologische bzw. physiologisch-chemische Grunddaten (Glucose, Lactat und Ketonkörper) vorliegen, ist es für das beabsichtigte Versuchsvorhaben eine Notwendigkeit, zumindest die im Diabetes gemessenen Stoffwechselparameter vorher unter Normalbedingungen, d. h. unter gegebenen Haltungs- und Fütterungsbedingungen zu erfassen. Diese Normalwerte sollten ein Urteil darüber ermöglichen, ob diese Ziegenrasse im Stoffwechselverhalten den bekannten Hauswiederkäuerarten (Rind, Schaf) vergleichbar ist.

*Für die Durchführung wird der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik (Vorstand: Prof. Dr. Leidl) gedankt.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Versuchstiere, Haltung und Fütterung

Für die Untersuchungen standen zur Verfügung: 8 kastrierte männliche Zwergziegen (Alter: 1 - 2 Jahre) mit einem Lebendgewicht von 14.5 kg (Z), 16.5 kg (Gi), 18.5 kg (Sc), 24.0 kg (B u. St), 24.5 kg (K), 25.0 kg (Ge) und 29.0 kg (E); 3 erwachsene kastrierte männliche Schafe der Merino-Landrasse (Alter: 2-3 Jahre) mit einem Lebendgewicht von 58.0 kg (B u. C) und 68.0 kg (A).

Die Ziegen und Schafe wurden in Einzelboxen gehalten und erhielten dreimal täglich (8.00, 12.00, 16.00 Uhr) Wiesenheu (10 - 11.5 % Rohprotein und 27.5 - 29 % Rohfaser in der Trockensubstanz) ad libitum und hatten freien Zugang zu Trinkwasser und Mineralsalz-Lecksteinen. Dies entsprach zumindest tagsüber einer angenähert kontinuierlichen Nährstoffversorgung.

Um die Möglichkeit einer stressbedingten Beeinflussung der zu untersuchenden Metabolite im Blut gering zu halten, war es zunächst erforderlich, die Tiere an die versuchstechnischen Manipulationen zu gewöhnen. Dazu gehörten außer dem ständigen Umgang mit den Tieren vor allem die Gewöhnung an die Techniken der Probenentnahmen unter experimentellen Bedingungen.

2.2. Versuchsablauf

Zur Induzierung verschieden schwerer diabetesähnlicher Zustände bei Zwergziegen dienten Injektionen von Streptozocin (Szn). Als Maß für den Grad des jeweiligen "Diabetes" wurden die Blutplasmaspiegel von Metaboliten vor allem des Energiestoffwechsels, wie Glucose, L(+)-Lactat, D(-)-Hydroxybutyrat (β -HB) und Acetoacetat (AcAc) herangezogen. Vor den Szn-Injektionen wurden unter Berücksichtigung von Tageszeit und Fütterung die Normalwerte dieser Metabolite bestimmt. Um z. B. die Glucose-Normalwerte von Zwergziegen denen von Hauswiederkäuern gegenüberstellen zu

können wurde in einem direkten Vergleich dieser Metabolit bei Schafen unter gleichen Haltungsbedingungen gemessen. Für den Vergleich von Lactat- und Ketonkörperkonzentrationen wurden Werte aus der Literatur herangezogen.

Im einzelnen wurde wie folgt vorgegangen:

An 5 Tagen wurden bei 8 Ziegen bzw. an 1 Tag bei 3 Schafen jeweils zu 5 verschiedenen Tageszeiten Blutproben entnommen (2.3.1.) und entsprechend aufgearbeitet. Neben einer Nüchternentnahme (7.30 Uhr) sollten so jeweils zwei Proben zwischen den Mahlzeiten, d. h. 9.30 und 11.30 Uhr bzw. 13.30 und 15.30 Uhr gewonnen werden.

Als weiteres Kriterium zur Beurteilung insbesondere des Glucosestoffwechsels bei Zwergziege und Schaf wurde unter Normbedingungen an 2 bzw. 3 Tagen jeweils ein intravenöser Glucose-Toleranz-Test durchgeführt (2.2.1). Die Ergebnisse dieses Tests sollten einen direkten Schluß auf die Funktionsfähigkeit des Inselapparates zulassen. Die Eliminationsgeschwindigkeit exogen zugeführter Glucose gilt dabei als Maß für den insulinabhängigen Glucosekatabolismus. Vor allem mögliche Grenzfälle, also Tiere, die sich nach Applikation niedriger Szn-Dosen in ihren Plasmaglucosespiegeln nicht eindeutig vom Normalzustand unterschieden, sollten dann durch neuerliche Tests erfaßt und geklärt werden.

Zur Ermittlung einer Mindestdosis Szn, die beim Wiederkäuer noch messbare Veränderungen der erwähnten Blutmetabolite zur Folge hat, wurden Vorversuche an Schafen durchgeführt. Zur Klärung der Frage, mit welcher Art von Veränderungen im Energiestoffwechsel des Wiederkäuers bei Diabetes zu rechnen ist, wurde zunächst am Schaf eine aus der Literatur (JARRETT u. Mitarbeiter, 1974) als diabetogen bekannte Dosis Alloxan injiziert und im Anschluß die Blutplasmaspiegel von Glucose, Lactat, 3-HB und AcAc verfolgt.

Ausgehend von der ermittelten Minimaldosis Szn sollten in den Versuchen mit Zwergziegen Dosissteigerungen zu unterschiedlich ausgeprägtem Diabetes mellitus führen, dessen Schweregrad und Stabilität anhand von quantitativen Metabolitveränderungen manifestierbar sein sollte. Dies machte

es erforderlich, von dem Zeitpunkt der Szn-Injektion diese Metabolite im Blut auch langfristig (1 - 12 Tage bzw. 1 - 60 Tage in einigen ausgewählten Fällen) zu verfolgen.

Die Frage möglicher Energieverluste über den Harn in Form von Glucose sollte durch stichprobenartiges Harnsammeln geklärt und soweit möglich auch quantifiziert werden.

Gewichtskontrolle und einfache klinische Untersuchungen (2.3.3.) parallel zur Metabolitanalyse sollten den Einfluß des "diabetischen" Zustandes auf Körpergewicht und Gesundheit der Tiere aufzeigen.

2.2.1. Intravenöser Glucose-Toleranz-Test (IVGTT)

Jeweils 2 Stunden nach der Morgenfütterung wurde den Tieren innerhalb von 30 sec Glucose (0.5 g/kg Körpergewicht) in Form einer 25 %igen Lösung von Glucose-Monohydrat (Fa. Vetoquinol) in die Vena jugularis injiziert und der Verlauf der Blutglucosekonzentration während der folgenden 60 min gemessen. Dazu wurde in der ersten halben Stunde alle 5 min, in der zweiten halben Stunde alle 10 min eine Blutprobe aus der Vena cava cranialis entnommen.

Zur Berechnung der Eliminationsgeschwindigkeit der exogen zugeführten Glucose wurde der Glucoseassimilationsquotient (k), der die Glucose-Elimination pro Minute angibt und die biologische Halbwertszeit ($T_{1/2}$) herangezogen. Die Berechnung erfolgte nach folgenden Formeln (KANEKO, 1980):

$$k \text{ (min}^{-1}\text{)} = \frac{1}{\Delta t} \cdot 2.303 \text{ (} \log y \text{)}$$

$$T_{1/2} \text{ (min)} = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0.693}{k}$$

2.2.2. Vorversuche an Schafen zur Ermittlung einer diabetogenen Szn-Mindestdosis

Beim Wiederkäuer existieren noch keine Untersuchungen über die diabetogene Wirksamkeit von Streptozocin. Zur Orientierung wurden deshalb in einem Vorversuch zwei Schafen Szn (2.5.) in Dosierungen von 25 bzw. 65 mg/kg Körpergewicht

verabreicht.

Als eine Art positive Kontrolle hinsichtlich eindeutig diabetesbedingter Metabolitveränderungen unter den gegebenen Haltungsbedingungen wurde einem dritten Schaf Alloxan injiziert. Eine eindeutig diabetogene Wirksamkeit dieser Substanz auch bei Wiederkäuern ist beschrieben (SNOSWELL, u. KOUNDAKJIAN, 1972; JARRETT u. Mitarb., 1974). Bei allen 3 Schafen wurden dann von dem Zeitpunkt der Injektion an bis zum 20. Tag danach Veränderungen der erwähnten Blutmetabolite verfolgt. Am ersten Tag post injectionem fanden die Probenentnahmen stündlich (10 Proben), am 2. - 3. Tag im Abstand von zwei Stunden (4 Proben) und von dem 4. Tag an nur noch ein- bzw. zweimal täglich statt.

2.2.3. Induzierung verschieden schwerer diabetischer Zustände durch Szn-Injektionen bei Zwergziegen

Die Ergebnisse der Vorversuche (3.3.) legten nahe, um verschieden schwere Diabetes-Zustände zu induzieren, einen Dosisbereich oberhalb 60 mg/kg Körpergewicht (KG) Szn zu wählen. Aufgrund der begrenzten Anzahl der zu Verfügung stehenden Zwergziegen, erschien es sinnvoll, die Dosierungen in Schritten von 5 mg/kg KG zu erhöhen, wobei die untere und obere Grenzkonzentration im Sinne einer "Doppelbestimmung" zweimal bei verschiedenen Tieren Verwendung fanden. Somit ergaben sich folgende Szn-Dosierungen pro kg KG: 65 mg (Ge und E), 70 mg (B), 75 mg (K), 80 mg (Z), 85 mg (Gi) und 90 mg (St und Sc).

Der Zeitraum, in dem der jeweilige diabetische Zustand an Hand von Blutprobenentnahmen verfolgt wurde, erstreckte sich über 10 (Z), 20 (K), 40 (B und Gi) bis hin zu 60 (Ge, E, St und Sc) Tagen. Während der ersten 10 Tage fanden die Probengewinnungen im gleichen zeitlichen Abstand wie bei 2.2.2. beschrieben statt; im weiteren Verlauf der Untersuchungen wurde das Intervall zwischen den Probenentnahmen von zwei bis auf sieben Tage verlängert.

Harnsammlungen fanden soweit möglich jeweils über einen Zeitraum von 24 Stunden statt.

2.3. Probengewinnung, -konservierung und -verarbeitung

2.3.1. Blutproben

Für alle Bestimmungen wurde Blut aus der Vena cava cranialis bzw. Vena jugularis verwendet. Um stressbedingte Veränderungen der zu untersuchenden Blutparameter weitgehend zu verhindern (RIETSCHEL, 1973) wurde Blut unter Verwendung eines Dauerkatheters (Hemocath-Katheter Nr. 143.20, 30 cm lang, Durchmesser 1.5 x 2.0 mm, Fa. Vygon, Aachen) und eines Verlängerungsschlauches (Jugoseldschlauch LL Nr. 2115.17, 15 cm lang, Durchmesser 1.5 x 2.0 mm) entnommen, was eine Fixierung des Kopfes der Tiere zur Blutentnahme überflüssig machte. Die Punktion der Vena jugularis und das Einschieben der Verweilkatheter in Richtung Vena cava cranialis fand jeweils 12 Stunden vor Versuchsbeginn unter möglichst aseptischen Kautelen statt, um die Gefahr einer mechanischen Reizung mit nachfolgender bakterieller Infektion soweit wie möglich zu umgehen. Die Katheter blieben den Erfordernissen der Versuchsabläufe entsprechend bis zu einem Zeitraum von maximal zwei Wochen liegen. Die Punktionsstelle wurde täglich kontrolliert und bei Bedarf mit einem lokal wirkenden Antiphlogistikum eingerieben. Bei stärkeren Abwehrreaktionen des Gewebes mit einem Anstieg der täglich kontrollierten Rektaltemperatur wurde der Katheter entfernt und nach einer Rekonvaleszenzzeit von wenigen Tagen auf der gegenüberliegenden Halsseite ein neuer gelegt.

Die Verwendung von Verweilkathetern bei der Blutprobengewinnung hatte den großen Vorteil, daß eine Vielzahl von Blutproben ohne jegliche Beunruhigung der Tiere auch in kürzesten Abständen (z. B. beim IVGTT 5 Minuten) gewonnen werden konnten. Die Katheter wurden nach jeder Probenentnahme mit einem Antikoagulans (3.8 %ige sterile Na-Citratlösung, Fresenius, Bad Homburg) aufgefüllt und anschließend mit einem Mandrin verschlossen. Vor jeder Entnahme mußte deshalb der erste ml der gezogenen Probe als Blut/Citrat-Gemisch verworfen werden.

Sollte nur vereinzelt Blut gewonnen werden, so wurde die Vena jugularis jeweils mit Hilfe einer feinen, sterilen Kanüle (Sterikan[®], 1.20 x 38 mm) punktiert.

Das Blutprobenvolumen betrug in der Regel 10 ml (bzw. 5 ml beim IVGTT). Die Entnahme erfolgte ausschließlich mit Hilfe einer Sicherheits-Monovette[®] mit NH_4 -Heparinat als Gerinnungshemmer und einem trennschichtbildenden Granulat (Fa. W. Sarstedt, Nümbrecht). Bis zur Plasmagewinnung (Zentrifugation des Vollblutes bei ca. 1100 g) wurde die Probe im Eisbad gekühlt. Ein Teil des gewonnenen Plasmas wurde sofort bis zur weiteren Verarbeitung bei -18°C tiefgefroren. Der Rest wurde sofort zur Enteiweißung mit eisgekühlter 6.6 m Perchlorsäure im Verhältnis 10 : 1 versetzt, ins Eisbad gestellt und anschließend bei 1100 g 10 min zentrifugiert. Der klare Überstand wurde dekantiert und mit 1 M KOH unter Kontrolle eines Universalindikators (Merck, Darmstadt) im Eisbad neutralisiert und der Niederschlag von KClO_4 abzentrifugiert. Im klaren Überstand wurden L(+)-Lactat, D(-)-3-HB und Acetoacetat bestimmt.

2.3.2. Harnproben

24-Stunden-Harn wurde mittels eines unter der Präputialöffnung geklebten Harnauffangbeutels für Kinder (Fa. Braun, Melsungen) aufgefangen, über einen Verlängerungsschlauch abgeleitet und in einem Messgefäß gesammelt. Um bakterielles Wachstum zu verhindern, wurden Thymolkristalle (ca. 1 g) im Harnauffangbeutel vorgelegt. Zeitpunkt und Volumen einzelner Miktionen konnten nur stichprobenartig kontrolliert und festgehalten werden.

2.3.3. Klinische Untersuchungen

Neben der täglichen Kontrolle der Rektaltemperatur und der Implantationsstelle des Venenkatheters fand bei allen Tieren eine regelmäßige Überprüfung von Puls, Atmung, Frequenz der Pansenmotorik sowie eine ständige Kontrolle hinsichtlich Futteraufnahme, Kot- und Harnabsatz statt.

2.4. Analytische Methoden

2.4.1. Enzymatische Bestimmung von Glucose

Zur Bestimmung von Glucose in Plasma und Harn stand ein "Glucose Analyser" (Fa. Beckmann, München) zur Verfügung. Durch die kurzen Meßzeiten (1 - 2 min pro Probe) des Gerätes wurden rasche Informationen erhalten, die eine ständige aktuelle Kontrolle der Blutglucose-Konzentrationen der Versuchstiere ermöglichten. Der automatisierten enzymatischen Bestimmung liegt folgendes Reaktionsprinzip zugrunde:

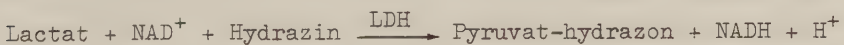


β -D-Glucose wird mit Hilfe von Glucoseoxidase (Fa. Beckman, München) enzymatisch umgesetzt. Gemessen wird die Sauerstoffabnahme im Reaktionsgemisch, die der Glucose-Konzentration proportional ist. Pro Bestimmung werden 0.01 ml Blutplasma benötigt. Harnproben mußten entsprechend dem Meßbereich des Gerätes (0.5 - 25 mmol/l) verdünnt werden. Bei vier verschiedenen Standardkonzentrationen von 2.75, 5.5, 8.25 und 11 mmol Glucose pro l betrug bei jeweils 10 Ansätzen die Wiederfindungsrate im Mittel $98.9 \pm 1.5 \%$.

2.4.2. Enzymatische Bestimmung von L(+)-Lactat

Die Lactatbestimmung erfolgte nach HOHORST (1970) enzymatisch unter Verwendung einer NAD-abhängigen L(+)-Lactatdehydrogenase (EC 1.1.1.27) aus Schweinemuskel (Boehringer, Mannheim).

Der Bestimmung liegt folgendes Prinzip zugrunde:



Als Meßgröße diente dabei die durch Zunahme der NADH - Konzentration bedingte Extinktionsänderung (ΔE) bei 366 nm..

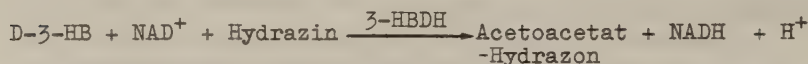
Wie auch bei den folgenden Bestimmungen (2.4.3., 2.4.4.)

wurde die Messung der Extinktion am Eppendorf-Photometer (Fa. Eppendorf, Hamburg) mit einer Halbmikro-Durchflußküvette durchgeführt.

Zur Berechnung wurde ein L(+)-Milchsäure-Standard mitgeführt.

2.4.3. Enzymatische Bestimmung von D(-)-3-Hydroxybutyrat

Die Bestimmung von D(-)-3-Hydroxybutyrat (3-HB) wurde nach den Angaben von WILLIAMSON und Mitarbeiter (1962) entsprechend folgendem Prinzip durchgeführt,



in der Ausführung jedoch etwas modifiziert:

Die Reaktion wurde nicht in Küvetten sondern in Reagenzgläsern angesetzt. Zur Ermittlung von E_1 wurde mittels einer Eppendorf-Pipette genau 1 ml zur Messung in der Halbmikrodurchflußküvette entnommen (0.5 ml zur Durchspülung, 0.5 ml zur Messung). Der restliche Ansatz wurde mit 0.01 ml D-3-Hydroxybutyratdehydrogenase (EC 1.1.1.30, Boehringer, Mannheim, 3 Units/ mg) versetzt und nach 1 1/2-stündiger Inkubation bei 25 °C erneut die Extinktion (E_2) gemessen. Die Extinktionsdifferenz durch die NADH-Zunahme galt als Meßgröße. Die Auswertung erfolgte unter Heranziehung des molaren Extinktionskoeffizienten für NADH bei 366 nm ($3.3 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$) und des jeweiligen Verdünnungsfaktors durch Enteiweißen und Neutralisieren der Plasmaprobe.

2.4.4. Enzymatische Bestimmung von Acetoacetat

Die Bestimmung von Acetoacetat (AcAc) wurde entsprechend den Angaben von MELLANBY und WILLIAMSON (1962) durchgeführt. Das zugrunde liegende Reaktionsprinzip läßt sich wie folgt formulieren:



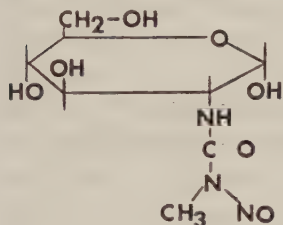
Im übrigen entsprach das analytische Vorgehen einschließ-

lich Messung und Berechnung dem unter 2.4.3. beschriebenen Verfahren zur 3-HB-Bestimmung.

2.5. Injektionslösungen

2.5.1. Streptozotocin (Szn)

Kristallines Streptozotocin (Upjohn Co., Kalamazoo, Michigan, USA), ein N-nitroso-Harnstoffderivat von 2-Desoxyglucose



Streptozotocin
(Streptozocin)

2-Desoxy-2-(3-Methyl-3-Nitroso-
Ureido)-D-Glucopyranose

wurde entsprechend der Anleitung der Herstellerfirma in einer mit 0.01 M Citronensäure auf pH 4.7 eingestellten, sterilen 0.9 %igen NaCl-Lösung aufgelöst und eine 10 %ige Lösung hergestellt. Die fertige Injektionslösung wurde jeweils unmittelbar nach Herstellung den Tieren zügig appliziert. Diese Bedingungen sollten eine Inaktivierung der Substanz weitgehend verhindern, nachdem z. B. bei 37 °C und einem pH-Wert von 7.0 eine biologische Halbwertszeit von 5 - 10 min für Szn ermittelt wurde (GUNNARSON u. Mitarb., 1973).

2.5.2. Alloxan

Alloxan-Monohydrat (Sigma-Chemie, München), ein 2,4,5,6-Tetraoxypyrimidin bzw. 5,6-Dioxyuracil wurde wie unter 2.5.1. beschrieben hergestellt und ebenfalls sofort intravenös injiziert.

2.6. Statistische Methoden

Die Meß- bzw. Rechenergebnisse werden als Einzelwerte bzw. Mittelwerte ($\bar{x}$) mit Standardabweichung ($\pm s$) wiedergegeben. Die Berechnung des 95 %igen Konfidenzbereiches tageszeitlich abhängiger Konzentrationsverläufe erfolgte nach SACHS (1972) mit Hilfe folgender Formel:

$$\bar{x} \pm 2 \frac{SD}{n}$$

Die Signifikanz wurde mit dem F-Test überprüft, die Varianzanalyse erfolgte über das Rechenzentrum der Universität*.

*Für die Durchführung wird Herrn Prof. Dr. Osterkorn, Institut für Tierzucht, München, gedankt.

3. ERGEBNISSE

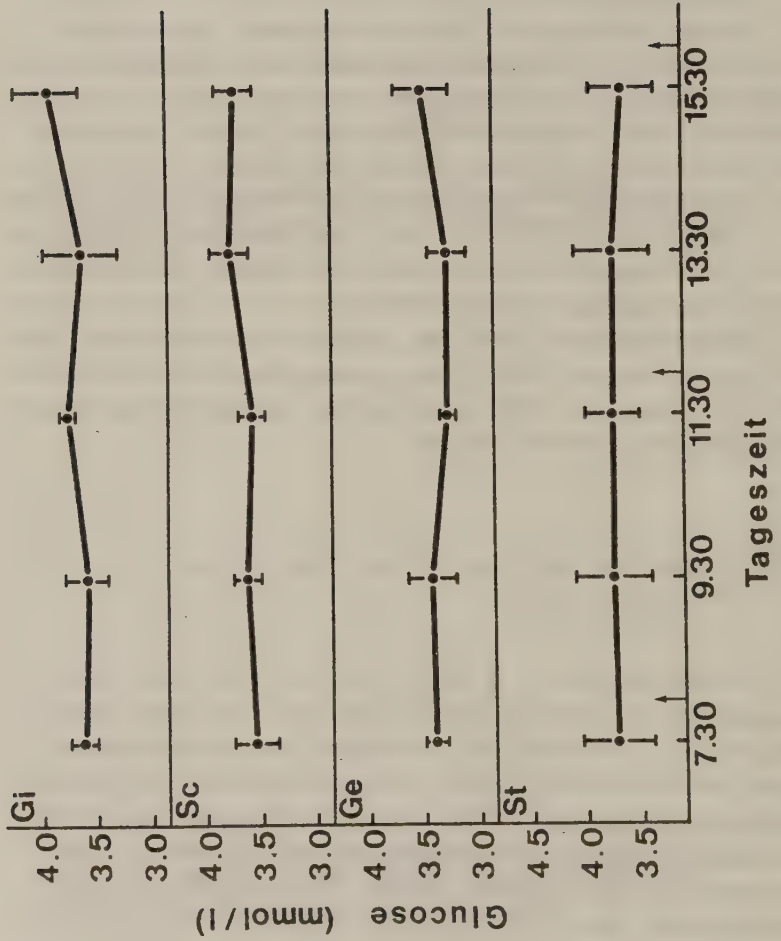
3.1. Glucose, Lactat, 3-Hydroxybutyrat und Acetoacetat im Blutplasma von Zwergziegen bei physiologischer Stoffwechsellage

Die im Blut von Zwergziegen untersuchten Metabolite Glucose, Lactat, 3-Hydroxybutyrat und Acetoacetat sind analytisch leicht zugängliche Metabolite, deren Konzentrationsverhalten insgesamt präzise und aktuell über die jeweilige Energiestoffwechsellage informiert. Voraussetzung für das Erkennen einer von der Norm abweichenden anabolen oder katabolen Stoffwechsellage ist jedoch, die sogenannten "Normalspiegel" dieser Metabolite, d. h. deren Konzentrationsverlauf unter den gegebenen Haltungs- und Fütterungsbedingungen zu kennen. Zu Vergleichszwecken sollten die Glucosespiegel beim Schaf unter identischen äußeren Bedingungen ermittelt werden.

3.1.1. Einfluß der Tageszeit auf die Konzentrationsverläufe

In den Abbildungen 1, 2 und 3 sind für jede der 8 Zwergziegen die aus 5 Versuchstagen zwischen 7.30 und 15.30 Uhr ermittelten individuellen, mittleren Konzentrationsverläufe der erwähnten Metabolite wiedergegeben. Die beiden folgenden Abbildungen 4 und 5 zeigen einen aus allen Versuchsdaten gemittelten Zwergziegen-typischen Konzentrationsverlauf für Glucose, Lactat, 3-Hydroxybutyrat und Acetoacetat (Abb. 4) sowie einen für das Schaf typischen Glucoseverlauf (Abb. 5), jeweils in Abhängigkeit von der Tageszeit (Einzeldaten zu Abb. 1 - 5 s. Anhang 1).

Der in diesen Abbildungen angegebene Konfidenzbereich umfaßt 95 % aller vom jeweiligen Mittelwert abweichenden individuellen Werte.



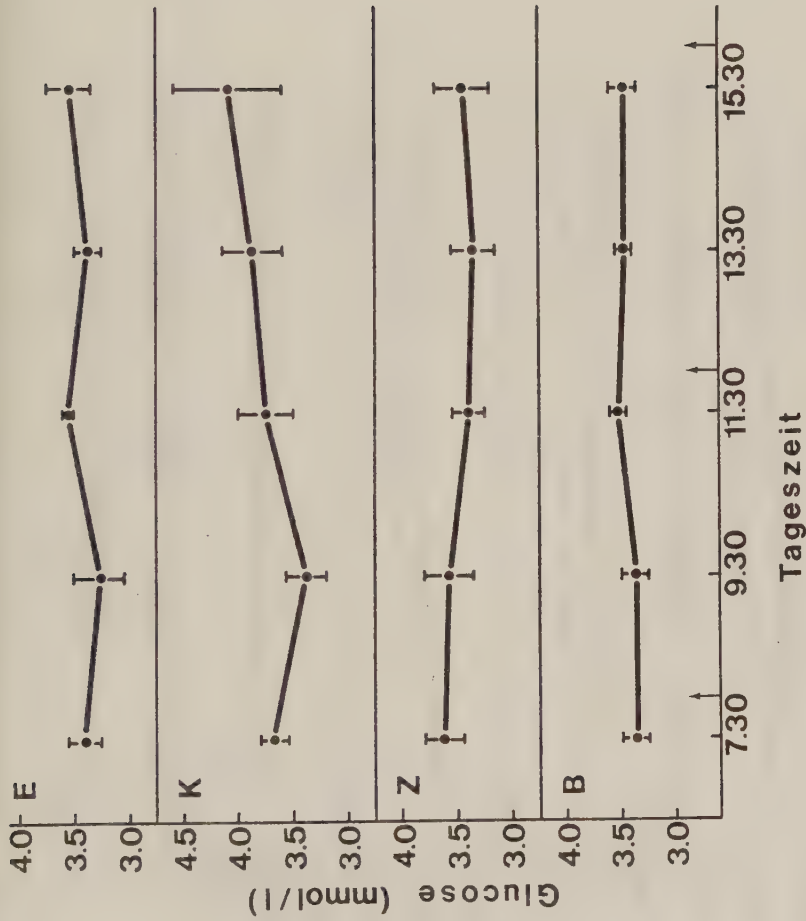
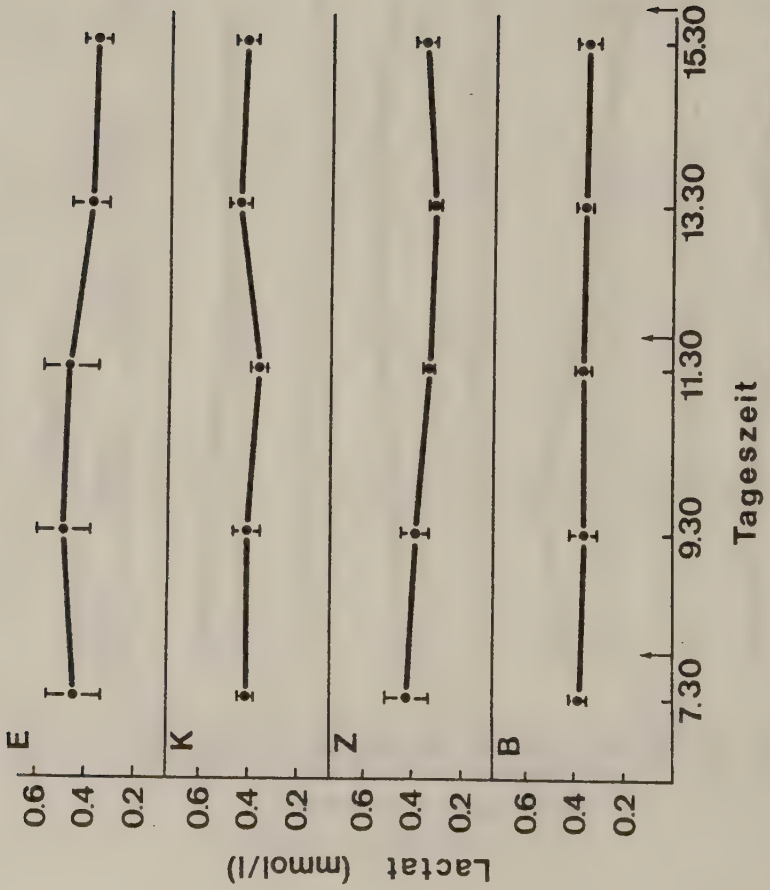


Abb. 1 : Mittlerer tageszeitlicher Verlauf (n=5 Tage) der Glucose-Konzentrationen im venösen Blutplasma von 8 Zwergziegen (↑ Fütterung 8.00, 12.00, 15.00 Uhr) (Einzeldaten siehe Anhang 1).



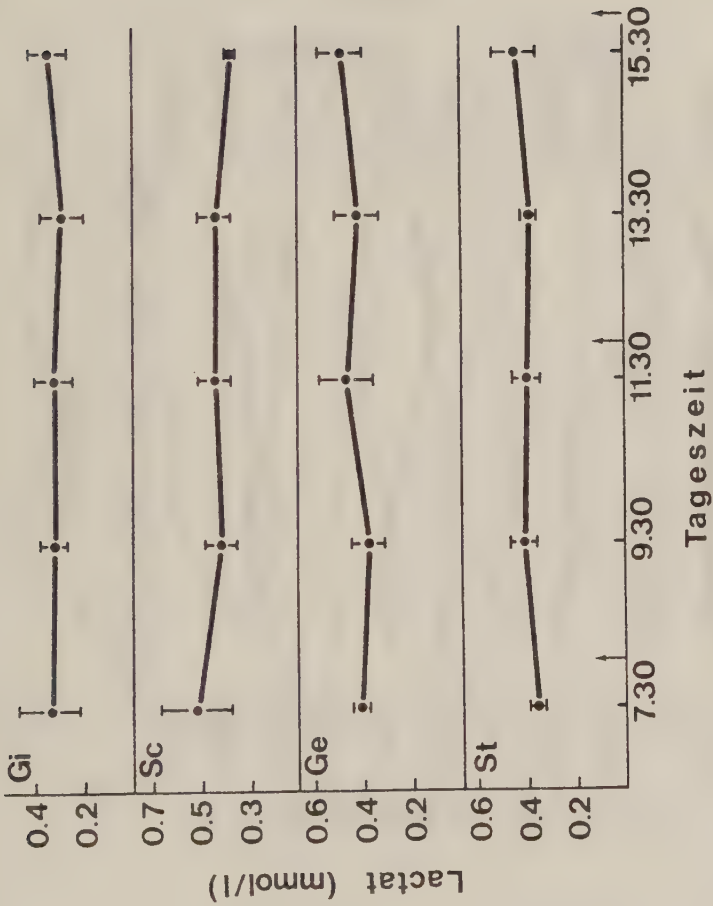
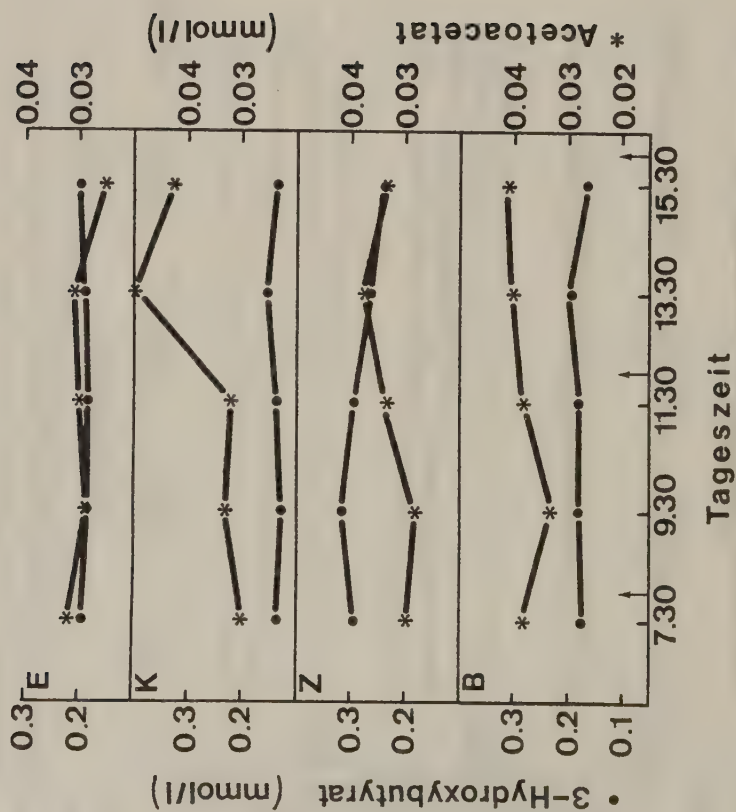


Abb. 2 : Mittlerer tageszeitlicher Verlauf (n=5 Tage) der Lactat-Konzentrationen im venösen Blutplasma von 8 Zwergziegen (↑ Fütterung 8.00, 12.00, 16.00 Uhr) (Einzeldaten siehe Anhang 1)



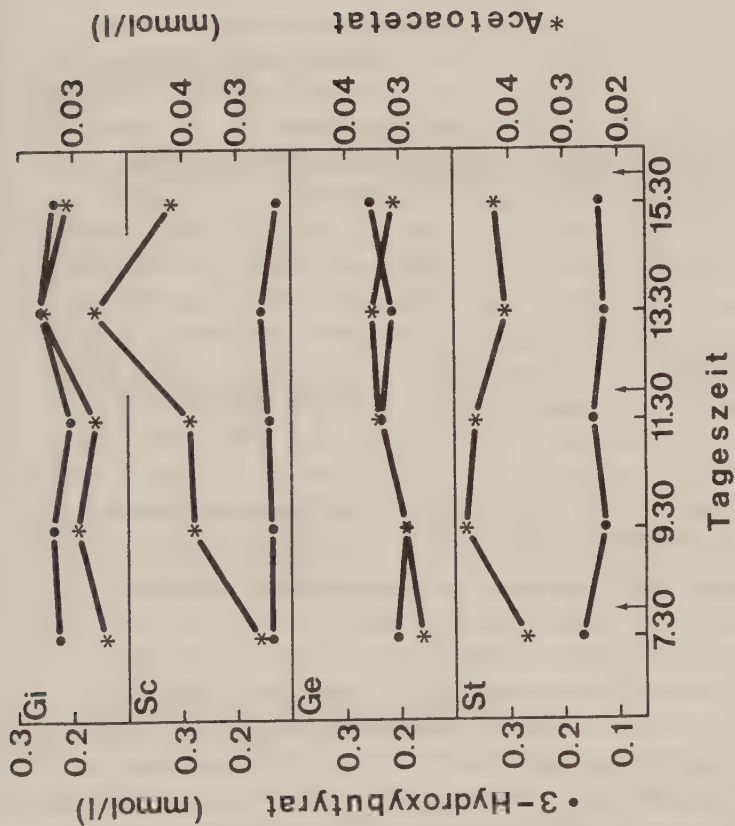


Abb. 3: Mittlerer tageszeitlicher Verlauf ($n=5$ Tage) der β -HB- bzw. AcAc-Konzentrationen im venösen Blutplasma von 8 Zwergziegen ($\uparrow$ Fütterung 8.00, 12.00, 16.00 Uhr) (Einzeldaten siehe Anhang 1)

Vergleicht man die individuellen Metabolitkonzentrationen der Zwergziegen untereinander (Abb. 1,2,3), so kommt man zu folgendem Ergebnis:

Die Glucoskonzentration blieb bei den meisten Ziegen (Z, B, Ge, St, Sc) im Tagesverlauf weitgehend konstant. Bei einigen Tieren (E, K, Gi) war der Konzentrationsverlauf jedoch unruhig, d. h. durch abwechselnden Abfall bzw. Anstieg gekennzeichnet. Bei diesen Tieren war auch, vor allem zur Nachmittagszeit, also nach der 2. Fütterung, ein deutlicher Anstieg bis zu 10 % des Nüchternwertes (7.30 Uhr) zu beobachten. Als Folge dieser individuellen Erscheinungen zeigt der mittlere Glucoseverlauf aller 8 Ziegen (Abb. 4) nach anfänglichem leichten Abfall von 3.52 mmol/l um 7.30 Uhr auf 3.50 mmol/l um 9.30 Uhr, einen leichten aber kontinuierlichen Anstieg auf 3.68 mmol/l um 15.30 Uhr. Noch deutlicher zeigte sich diese scheinbar fütterungsbedingte Zunahme des Glucosespiegels im mittleren Tagesverlauf der Plasmaglutucose von Schafen (Abb. 5). Hier fällt neben einem prägnanten Abfall der Konzentrationen von 3.45 mmol/l um 7.30 Uhr auf 3.12 mmol/l um 9.30 Uhr, der etwas steilere Anstieg der Blutglucose auf über 3.5 mmol/l im restlichen Tagesverlauf (11.30 - 15.30 Uhr), sowie die erhebliche Ausdehnung des Konfidenzbereiches im selben Zeitraum auf.

Die Lactatspiegel im Plasma zeigten bei den einzelnen Ziegen (Abb. 2), aber auch im Mittel aller 8 Ziegen (Abb. 4) einen sehr gleichmäßigen Tagesverlauf. Auffallend waren auch die kleinen Streuungen zu den einzelnen Tageszeiten (Abb. 2), sowie der schmale Konfidenzbereich von 95 %. Da Plasmalactat üblicherweise ein sehr stressempfindlicher Metabolit ist, kann man auf Grund der vorliegenden Befunde eine weitgehend stressfreie Blutentnahme bei unseren Versuchsziegen vermuten.

Bei den Ketonkörperspiegeln war das Bild uneinheitlich. Während sich der 3-Hydroxybutyrat-Spiegel sowohl im jeweils einzelnen (Abb. 3) wie auch im gemeinsamen mittleren Tagesverlauf (Abb. 4) nahezu schwankungsfrei verhielt, zeigte Acetoacetat bei einzelnen Tieren erhebliche Schwankungen (Abb. 3). Besonders auffallend war dabei wieder,

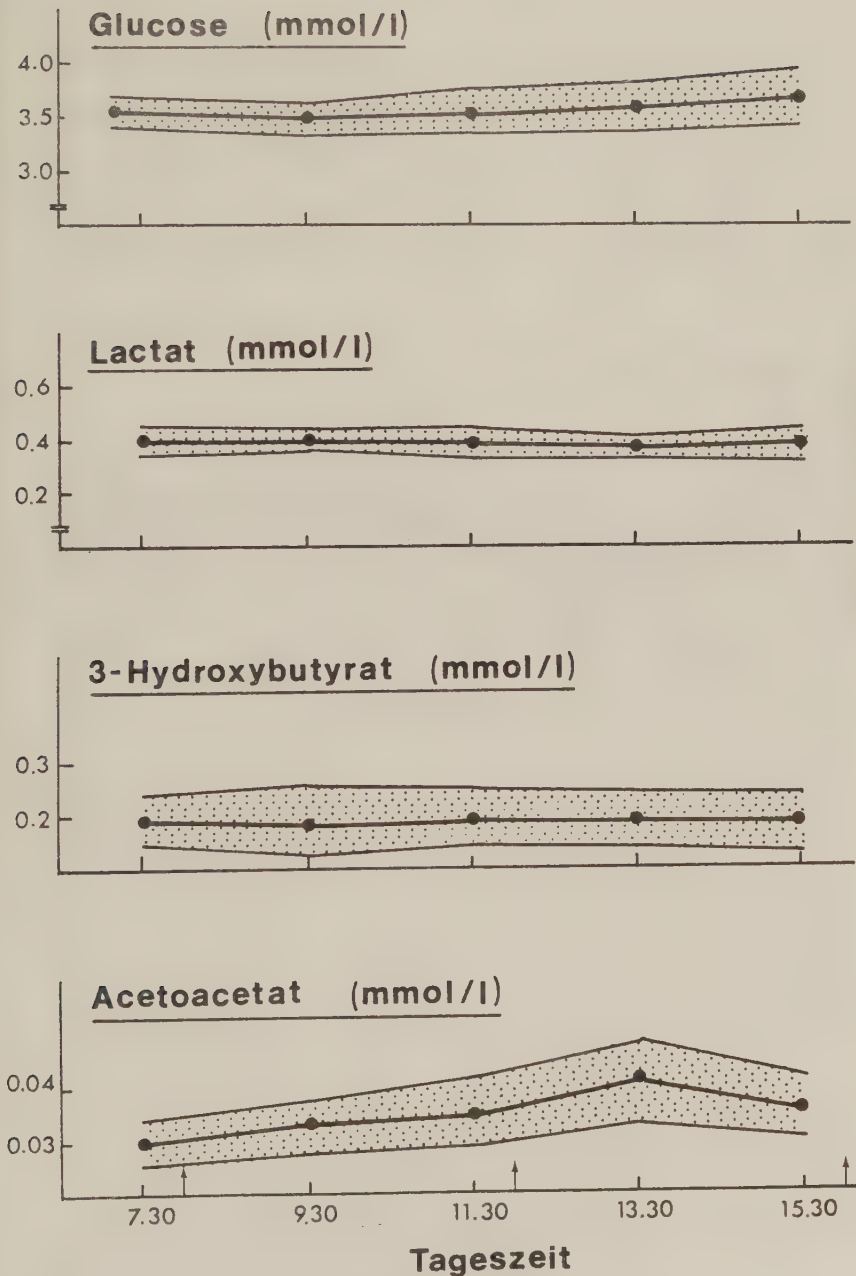


Abb. 4 : Mittlerer Tagesverlauf (mit 95 %igem Konfidenzbereich) verschiedener Metabolite im Blutplasma von 8 Zwergziegen (↑ = Fütterungszeiten)
(Einzeldaten siehe Anhang 1)

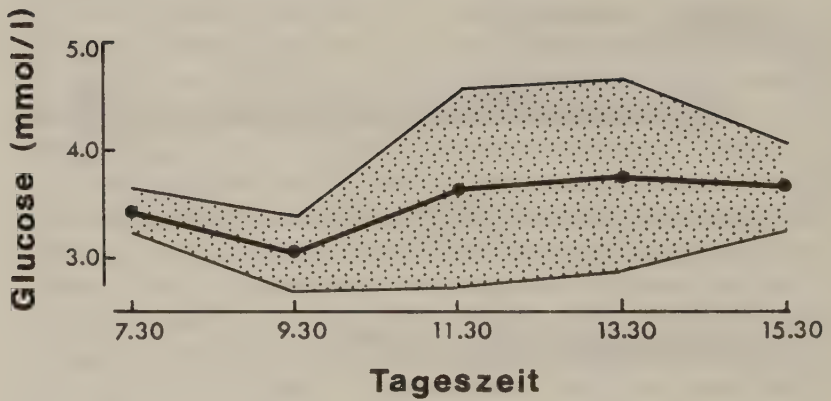


Abb. 5 : Mittlerer Tagesverlauf (mit 95 %igem Konfidenzbereich) der Glucose im Blutplasma von 3 Schafen

daß bei einigen Tieren (K, Z, B, Gi, Sc) ein ungewöhnlicher, mehr oder weniger deutlicher Konzentrationsgipfel in den frühen Nachmittagsstunden zu verzeichnen war. Dies hatte zur Folge, daß sich im gemeinsamen mittleren Tagesverlauf dieses Metaboliten (Abb. 4) zu einem leichten Aufwärtstrend von dem Nüchternwert an ein deutlicher Gipfel gegen 13.30 Uhr ausbildete.

3.1.2. Tagesmittelwerte von Glucose, Lactat, 3-Hydroxybutyrat und Acetoacetat und Varianzursachen

Eines der Ziele der vorliegenden Arbeit war es, für Zwergziegen einen Normalspiegel von Glucose, Lactat, 3-Hydroxybutyrat und Acetoacetat im Plasma unter gegebenen Haltungsbedingungen angeben zu können. Nachdem im mehrstündigen Konzentrationsverlauf dieser Metabolite nur in Einzelfällen ein zwar sichtbarer, jedoch statistisch nicht signifikanter Einfluß der Tageszeit bzw. der Futteraufnahme zu verzeichnen war, wurde für jedes Einzeltier, sowie für alle Ziegen bzw. alle Schafe gemeinsam ein mittlerer Normalwert der untersuchten Metabolite errechnet. Entsprechende Mittelwerte samt Streuungen sind in Tabelle 2 wiedergegeben.

Bei Betrachtung dieser Werte fällt auf, daß vier der acht Ziegen (E, Z, B, Ge) Blutzuckerwerte in einem Bereich von 3.3 - 3.5 mmol/l, die anderen dagegen Werte in einem Bereich von 3.6 - 3.8 mmol/l Plasma aufweisen. Bei letzteren vier Ziegen ist auch eine scheinbar größere Standardabweichung der Mittelwerte festzustellen. Vergleicht man den Gesamt-Tagesmittelwert aller Zwergziegen für Glucose von 3.60 mmol/l mit dem aller Schafe von 3.44 mmol/l Plasma, so kann man feststellen, daß der Plasmaglucoosespiegel bei Schafen unter entsprechenden Haltungsbedingungen um rund 4 % niedriger liegt. Wegen der geringen Anzahl von Schafen war eine statistische Überprüfung dieses Unterschiedes jedoch nicht möglich.

Während sich die Normalspiegel für Lactat bei den einzelnen Ziegen kaum unterschieden, war bei den Ketonkörpern

Tabelle 2: Tagesmittelwerte (7.30 - 15.30 Uhr) von Glucose-, Lactat-, 3-Hydroxybutyrat- und Acetoacetatkonzentrationen im Plasma

Ziege	(mmol/l)				3-HB/AcAc
	Glucose	Lactat	3-HB	AcAc	
E	3,42 ± 0,20 ¹	0,43 ± 0,10 ¹	0,196 ± 0,036 ¹	0,030 ± 0,0054 ²	6,6
B	3,45 ± 0,11	0,37 ± 0,04	0,180 ± 0,035	0,039 ± 0,0057	4,6
Ge	3,36 ± 0,21	0,44 ± 0,09	0,223 ± 0,042	0,031 ± 0,0067	7,2
Z	3,48 ± 0,23	0,34 ± 0,05	0,282 ± 0,056	0,032 ± 0,0052	8,8
Gi	3,76 ± 0,29	0,33 ± 0,03	0,233 ± 0,028	0,030 ± 0,0048	7,7
K	3,78 ± 0,43	0,40 ± 0,04	0,137 ± 0,030	0,037 ± 0,0082	3,7
Sc	3,67 ± 0,19	0,42 ± 0,06	0,139 ± 0,021	0,037 ± 0,0110	3,8
St	3,76 ± 0,36	0,40 ± 0,06	0,138 ± 0,024	0,043 ± 0,0075	3,2
$\bar{x}$	3,60 ± 0,18	0,39 ± 0,04	0,191 ± 0,053	0,035 ± 0,0048	5,7 ± 2,1

Schar

A	3,40 ± 0,16 ³
B	3,70 ± 0,49
C	3,21 ± 0,35
$\bar{x}$	3,44 ± 0,25

1) n=25; 2) n=15; 3) n=5

dagegen ähnlich den Glucosespiegeln ein gewisses Gruppenverhalten erkennbar. Ziegen der Gruppe mit niedrigen Blutglucose-Normalwerten zeigten bis auf eine Ausnahme (B) höhere 3-Hydroxybutyrat- (bis zu 50 %) und niedrigere Acetoacetatspiegel als die Tiere der Gruppe mit den hohen Glucosewerten. Mit einer Ausnahme (Gi) zeigen letztere niedrigere 3-Hydroxybutyrat- und höhere Acetoacetatspiegel. Dies läßt einen Zusammenhang zwischen Plasmaglucosespiegel und Ketonkörperkonzentration auch unter physiologischer Stoffwechsellaage vermuten.

Der Quotient der beiden Ketonkörper (3-HB : AcAc) liegt bei den Zwergziegen bei einem Wert von 6. Auffallend ist auch hier wiederum ein scheinbarer Zusammenhang zu den Blutzuckerspiegeln. Der Quotient von 3-HB/AcAc ist nämlich meist dann niedrig, wenn hohe Plasmakonzentrationen an Glucose im Plasma vorliegen.

Das Ergebnis einer statistischen Überprüfung möglicher Varianzursachen der in Abbildung 4 wiedergegebenen Mittelwerte für Glucose, Lactat und 3-Hydroxybutyrat im Tagesverlauf (Acetoacetat wurde auf Grund der geringen Anzahl gewonnener Daten nicht berücksichtigt) bei Zwergziegen ist in Tabelle 3 a - c aufgezeigt. Beabsichtigt war mit Hilfe einer Varianzanalyse diejenigen Wirkungsmomente näher abzugrenzen, die für die beobachteten Streuungen der einzelnen Normalwerte verantwortlich sind. Auf Signifikanz überprüft wurden hinsichtlich ihres Einflusses auf die Gesamtvarianz die Faktoren Individualität der Tiere sowie Tag und Tageszeit der Probenentnahmen. Für die Metabolite Glucose, Lactat und 3-Hydroxybutyrat konnte dabei im einzelnen bei Zerlegung der Streuung folgendes aufgezeigt werden.

Bei einem relativen Vergleich der drei Streuungsursachen Tier, Tag und Tageszeit beanspruchten die Tiere bei allen drei Metaboliten mit 53 % (Glc), 68 % (Lac) und 60 % (3-HB) jeweils den größten Anteil an der von diesen Faktoren zusammen verursachten Gesamtvarianz. Dieser Einfluß ist mit $p < 0.001$ durchweg hochsignifikant. Der Einfluß des jewei-

Tabelle 3 a - c : Streuungserlegung der Normalkonzentrationen von Glucose, Lactat und 3-Hydroxybutyrat im Blutplasma von Zwergziegen

	<u>SQ</u>	<u>FG</u>	<u>MQ</u>	<u>F</u>
<u>a) Glucose</u>				
Total	6.00259487"	3	194	1
Tiere	1.62651487"	3	3.09412107"	11.67 ***
Tageszeit	2.65774359"	2	2.32359267"	3.34 *
Tag	5.47184158"	2	6.64435897"	6.87 ***
Rest	3.56312148"	3	1.36796039"	2
			1.99057066"	1
<u>b) Lactat</u>				
Total	1.22732009"	2	184	-1
Tiere	2.50531606"	1	7	6.66 ***
Tageszeit	8.67532973"	-1	4	0.40 n.s.
Tag	5.92746686"	0	4	2.76 *
Rest	9.08838482"	1	169	0
			6.67021786"	-1
			3.57902295"	0
			2.16883243"	-1
			1.48186672"	0
			5.37774249"	-1
<u>c) 3-Hydroxybutyrat</u>				
Total	5.18045865"	-1	162	-3
Tiere	3.17425867"	-1	7	-2
Tageszeit	3.62754700"	-3	4	82.90 ***
Tag	1.16585231"	-1	4	1.66 n.s.
Rest	8.04072204"	-2	147	53.29 ***
			3.19781398"	-3
			4.53465524"	-2
			9.06886751"	-4
			2.91463077"	-2
			5.46987894"	-4

ligen Untersuchungstages ist bei Glucose und 3-Hydroxybutyrat mit 32 % bzw. 39 % ebenfalls hochsignifikant, bei Lactat mit 28 % gerade noch signifikant ($p < 0.05$).

Der Einfluß der Tageszeit als Varianzursache ist mit 15 % nur bei Glucose noch signifikant ($p < 0.05$), bei Lactat und bei 3-Hydroxybutyrat mit 4 % bzw. 1 % jedoch nicht mehr.

3.2. Intravenöser Glucosetoleranztest (IVGTT) bei Zwergziegen und Schafen unter Normalbedingungen

Wie bereits erwähnt, gibt die Eliminationsgeschwindigkeit exogen zugeführter Glucose (=Glucosetoleranz) einen Einblick in die Funktionsfähigkeit des insulinabhängigen Glucosekatabolismus. Zur Quantifizierung dieses Stoffwechselmerkmals werden die biologische Halbwertszeit $T_{1/2}$ und der Assimilationsquotient k von Plasma-glucose herangezogen.

In den vorliegenden Untersuchungen wurden durch intravenöse Glucose-Injektionen von 0.5 g/kg Körpergewicht bei Zwergziegen 5 min p. i. Blutzuckerspiegel von 20.1 ± 1.8 mmol/l und bei Schafen bis 19.6 ± 1.4 mmol/l Plasma erzielt (s. Anhang 2). Ergebnisse zur Glucoseeliminationsgeschwindigkeit unter derartigen Belastungen sind in Tabelle 3 aufgeführt. Beim Vergleich der Mittelwerte von $T_{1/2}$ und k bei Ziegen und Schafen fällt auf, daß die Elimination der Extraglucose bei den Ziegen gut 2mal so schnell erfolgt wie bei den Schafen. Bei Betrachtung der Einzelwerte stellt man fest, daß insbesondere Ziegen einmal deutliche individuelle Unterschiede (im Extremfall zwischen K und St ein Unterschied von 90 %) auftraten, zum anderen aber auch die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der Glucosetoleranz am selben Tier an verschiedenen Tagen recht unterschiedlich war. Die Einzelwerte bei Schafen verhielten sich dagegen relativ einheitlich. Sie waren auch gut reproduzierbar.

Tabelle 3 : Halbwertszeiten ($T \ 1/2$) und Assimilationsquotienten (k) von Glucose nach intra-venöser Glucose-Belastung bei Ziegen und Schafen an 2 bzw. 3 verschiedenen Tagen

<u>Ziege</u>	<u>1.</u>		<u>2.</u>		<u>3.</u>		$\bar{x}$ (% min ⁻¹)
	$T \ 1/2$ (min)	k (% min ⁻¹)	$T \ 1/2$ (min)	k (% min ⁻¹)	$T \ 1/2$ (min)	k (% min ⁻¹)	
E	29.0	2.37	26.0	2.68	26.5	2.62	27.1 2.56
Ge	40.1	1.73	27.9	2.48	29.1	2.38	32.4 2.19
B	-	-	32.0	2.16	23.0	2.96	28.0 2.45
K	38.0	1.70	40.0	1.75	42.0	1.65	40.0 1.70
Z	24.0	2.87	22.5	3.07	-	-	23.3 2.97
Gi	23.0	2.59	24.0	2.91	-	-	25.0 2.75
St	21.8	3.17	24.0	2.87	-	-	22.9 3.02
Sc	34.0	2.04	21.0	3.29	26.0	2.67	27.0 2.67
							$\bar{x}$ 28.2 2.54 $\pm s$ 5.6 0.43
<u>Schaf</u>							$\bar{x}$
	$T \ 1/2$ (min)	k (% min ⁻¹)	$T \ 1/2$ (min)	k (% min ⁻¹)	$T \ 1/2$ (min)	k (% min ⁻¹)	
A	49.5	1.40	51.3	1.35	49.5	1.40	50.1 1.38
B	44.1	1.60	56.3	1.23	47.1	1.47	49.2 1.43
C	50.6	1.37	63.0	1.09	54.1	1.28	55.9 1.25
							$\bar{x}$ 51.7 1.35

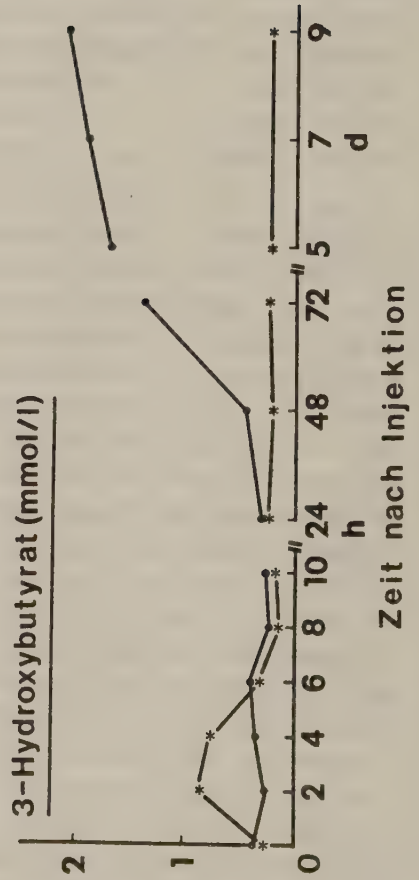
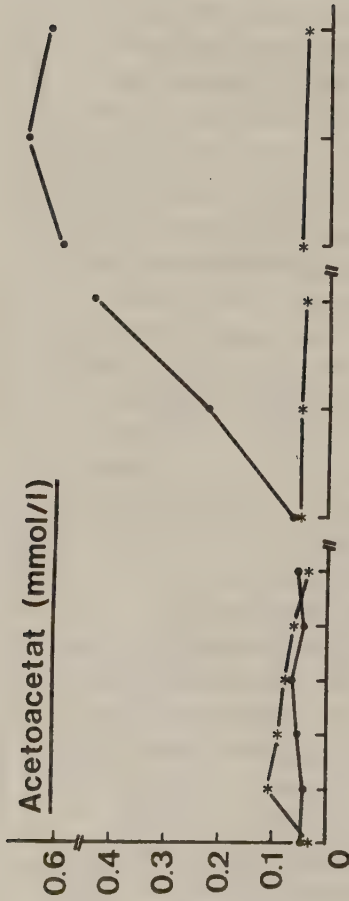
3.3 Vorversuche an Schafen zur Ermittlung einer diabetogenen Mindestdosis Streptozocin

Es gibt für Wiederkäuer noch keine Angaben über die diabetogene Wirksamkeit von Szn, wohl aber von Alloxan. Es erschien daher sinnvoll, zunächst in einem Vorversuch an einem Schaf (A) Alloxan in einer erprobten Dosierung zu injizieren, um dessen diabetische Auswirkungen an den ausgewählten Metaboliten kennenzulernen (Abb. 7). Die Ergebnisse dieses Vorversuches sollten schließlich auch helfen, die erwartete diabetogene Wirkung von Szn zu erkennen und zu bewerten.

Alloxan in einer Dosis von 65 mg/kg Körpergewicht führte bereits 5 h nach der intravenösen Injektion zu einer Verdreifachung der Blutglucosekonzentration. Eine erste Reaktion des Glucosespiegels war schon eine Stunde p. i. zu beobachten. Einer kurzzeitigen Erniedrigung des Blutzuckers von 12 mmol/l auf 8 mmol/l nach 10 h, folgte im Zeitraum von 24 - 72 h ein steiler Anstieg der Blutglucose bis auf Werte von über 20 mmol/l Plasma. Im weiteren Verlauf (7. - 11. Tag) pendelte sich die Glucosekonzentration schließlich auf 15 mmol/l Plasma ein.

Klinische Anzeichen eines hyperglykämischen Schocks 20 Tage p.i. (wie z. B. Somnolenz, Festliegen, Opisthotonus, völliges Sistieren der Pansenmotorik und des Wiederkauens etc.) machten Insulinsubstitutionen (40 IE Long Insulin CS[®], Hoechst AG, Frankfurt) erforderlich. Die Folge war jeweils ein deutliches Absinken der Glucosekonzentration im Plasma für einen Zeitraum von 3 - 4 Stunden.

Die Lactatkonzentration stieg innerhalb der ersten 8 h p. i. nur geringfügig an, zeigte dann aber nach 48 h einen deutlichen Gipfel mit über 3 mmol/l Plasma, dem sechsfachen der Ausgangskonzentration, und sank im weiteren Verlauf (5. - 11. Tag) wieder bis auf 1 mmol/l Plasma ab.



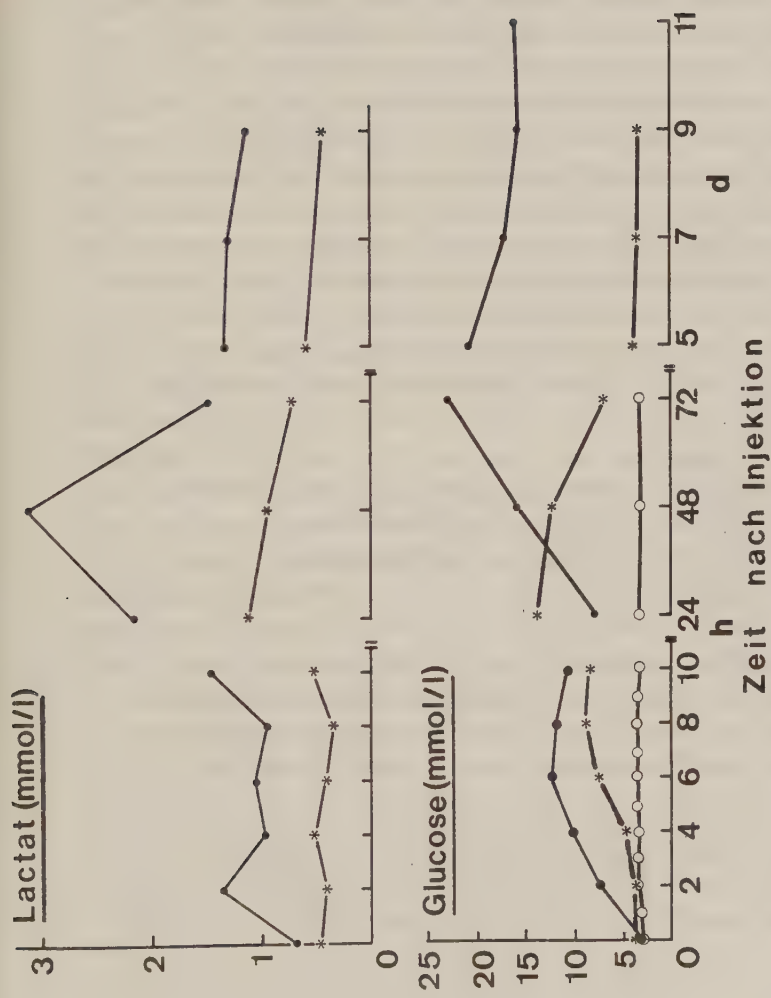


Abb. 7 : Kurzfristige (1 - 10 h) sowie längerfristige (1 - 11 d) Veränderungen im Konzentrationsverlauf von Glucose, Lactat, 3-HB und AcAc im venösen Blut von 3 Schafen (A = ●; B = ○; C = *) nach i.v. Injektion von Alloxan (A, 65 mg/kg KG) bzw. Streptozotocin (B, 25 mg/kg KG; C, 65 mg/kg KG)

Bei den Ketonkörpern, sowohl 3-Hydroxybutyrat wie auch Acetoacetat, konnte man nach 24 h einen Anstieg erkennen, der nach 10 Tagen Werte von größer als 2 mmol/l (3-HB) bzw. größer als 0.6 mmol/l (AcAc) erreichte. Diese Daten liegen bereits deutlich im Konzentrationsbereich von ketotischen Tieren (vergleiche Tabelle 1). Außerdem war eine Erniedrigung des Ketonkörperquotienten (3-HB/AcAc) auf kleiner als 3 festzustellen.

Die i. v. Injektion von Szn zunächst in einer Dosierung von 25 mg/kg Körpergewicht (Schaf B), die bei Ratten erste Anzeichen eines diabetischen Zustandes hervorriefen, hatte beim Schaf in einem Zeitraum von 72 h keinen Einfluß auf die Blutglucosekonzentration (Abb. 7). Auf eine analytische Verfolgung des Konzentrationsverhaltens von Lactat und Ketonkörper im Plasma wurde daher verzichtet.

Eine Dosissteigerung auf 65 mg/kg Körpergewicht (Schaf C) führte bereits 6 h p. i. zu einer deutlichen Erhöhung der Blutglucose (Verdopplung des Normalwertes), erreichte nach 24 h ein Maximum von > 15 mmol/l Plasma und sank dann bis zum 5. Tag p. i. wieder auf den Normalwert ab (Abb. 7).

Die Lactatkonzentration stieg zeitlich parallel zur Glucoseerhöhung auf einen Maximalwert von > 1 mmol/l Plasma an und fiel dann im weiteren Verlauf ebenfalls wieder auf den Ausgangswert von 0,5 mmol/l zurück.

Bei den Plasmaspiegeln von 3-Hydroxybutyrat und Acetoacetat war außer einer kurzzeitigen Verdopplung der Ausgangskonzentration zwischen 2. und 5. Stunde p. i. keine weiteren Veränderungen zu verzeichnen.

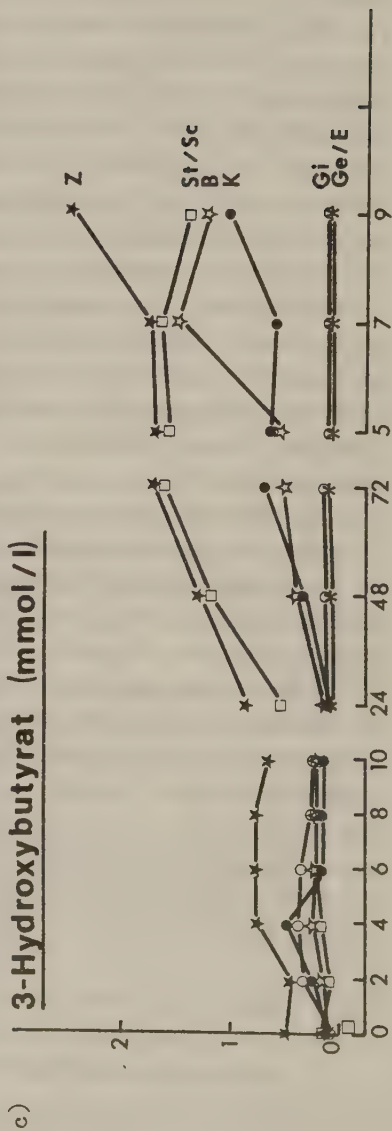
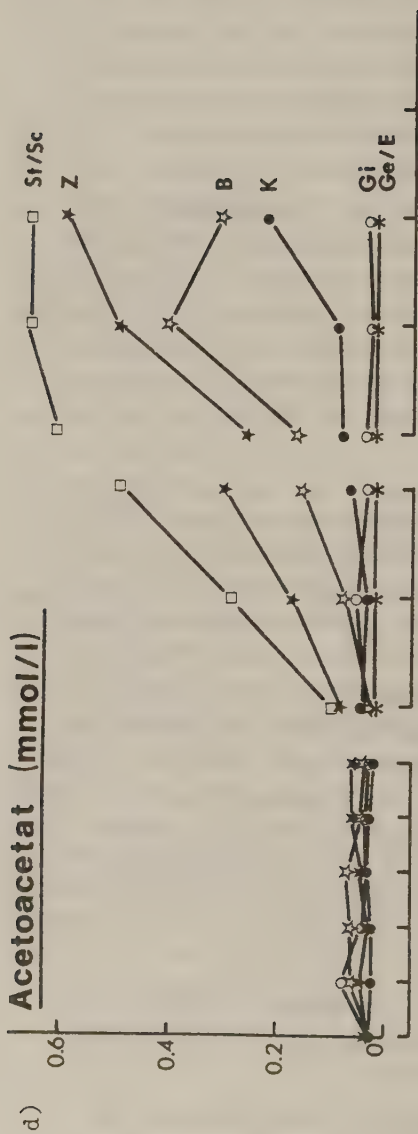
3.4 Auswirkung verschieden hoher Szn-Dosierungen auf die Energiestoffwechsellaage von Zwergziegen.

Ausgehend von den Ergebnissen der Vorversuche an Schafen, wurde zunächst zwei Zwergziegen (Ge, E) von identischem Körpergewicht eine Szn-Dosis von 65 mg/kg Körpergewicht injiziert, vermutlich die Mindestdosis zur Induzierung eines diabetischen Zustandes bei Schafen. Die identische Behandlung von 2 Tieren war dabei als ein Versuch zu sehen, Anhaltspunkte hinsichtlich individueller Variabilität bei der Ausbildung des Diabetes zu gewinnen. Eine begrenzte Anzahl von 8 Versuchstieren ließ es sinnvoll erscheinen weitere Dosissteigerungen durch Zulagen von jeweils 5 mg/kg Körpergewicht an Einzeltieren vorzunehmen, wobei dann die Dosis von 90 mg/kg Körpergewicht als Höchstdosis aus besagten Gründen ebenfalls an 2 Tieren (St, Sc) Verwendung fand.

Die Auswirkungen dieses Dosisspektrums auf die Metabolite Glucose, Lactat, 3-Hydroxybutyrat und Acetoacetat sind in Abb. 8a - d wiedergegeben. Da die Mindest- (65 mg/kg) und die Höchstdosis (90 mg/kg) jeweils gut reproduzierbare Ergebnisse lieferte, sind der besseren Übersichtlichkeit halber die betroffenen Tiere (Ge, E bzw. Sc, St) in dieser Abbildung in Form gemeinsamer mittlerer Konzentrationsverläufe zusammengefaßt. Die Angaben zu den Zeiten 24 - 48 - 72 h p. i. sind Mittelwerte aus bis zu 5, die am 5. - 7. - 9. Tag Mittelwerte aus 2 Einzelwerten (s. auch Material und Methoden 2.2.3.). Die jeweiligen Einzelwerte sind aus den Versuchsprotokollen im Tabellenanhang ersichtlich.

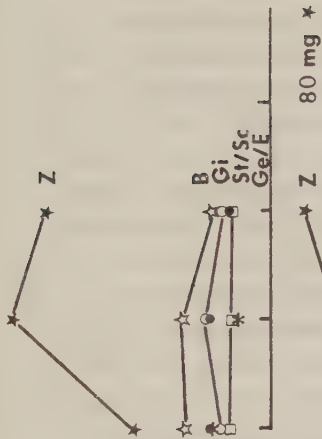
3.4.1 Kurz- und langfristige Änderungen im Konzentrationsverlauf von Glucose, Lactat, 3-Hydroxybutyrat und Acetoacetat

Nach intravenöser Applikation von Streptozotocin in besagten Dosierungen war bei allen Tieren innerhalb der ersten 24 h p. i. ein dreiphasiger Verlauf der



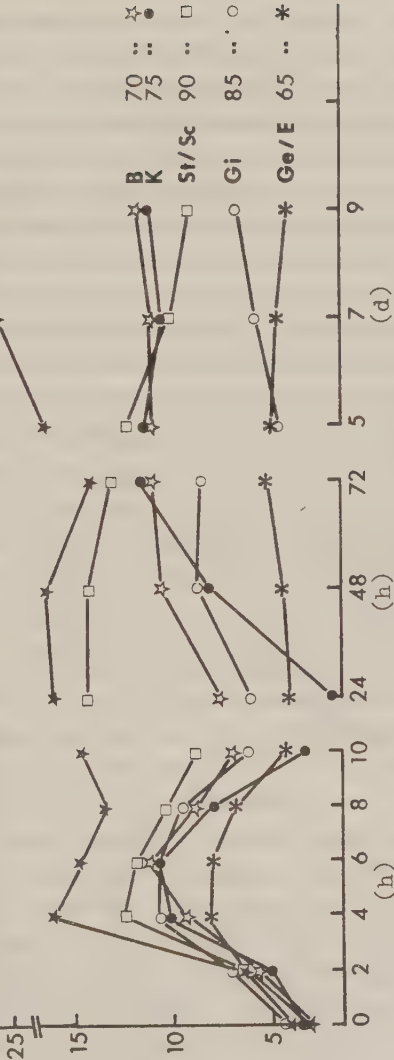
Lactat (mmol/l)

b)



Glucose (mmol/l)

a)



Zeit nach Injektion

Abb. 8.: Konzentrationsverlauf verschiedener Metabolite im Blut von 2 Zwergziegen nach i. v. Injektion von Szn im Dosisbereich 65 mg/kg - 90 mg/kg KG (Einzeldaten siehe Anhang 5 - 12)

Blutglucosekonzentrationen zu verzeichnen. Bereits ab der 1. Stunde p. i. nahm die Blutglucose deutlich zu mit einem Konzentrationsgipfel um die 4. - 6. Stunde. Die dabei erreichten Werte lagen in einem Bereich von 7 (Ge, E) bis 17 mmol/l (Z) (Abb. 8a). Anschließend war ein Abfall zu verzeichnen mit einem bestimmten Konzentrationsminimum jeweils zwischen der 10. und 24. Stunde p. i.. Im weiteren Verlauf stiegen die Blutglucosekonzentrationen dann wieder an und erreichten in der Regel ihren zweiten Höhepunkt 48 h nach Versuchsbeginn, um sich dann allmählich (3. - 5. Tag) auf ein gewisses Niveau einzupendeln. Eine Ausnahme machte hierbei Ziege (Z), bei der ein weiteres Ansteigen der Glucosekonzentration über den 5. Tag hinaus bis auf über 30 mmol/l Plasma zu verzeichnen war.

Die Plasmalactatspiegel (Abb. 8b) ließen einen mäßigen Anstieg auf Werte von teilweise > 1 mmol/l (St, Sc, Gi) innerhalb der ersten 24 h erkennen, nach 24 h erreichten die Konzentrationsverläufe jedoch wieder nahezu die Ausgangswerte. Besonders hervorzuheben ist wiederum Tier (Z), bei dem ab dem 3. Tag ein Anstieg bis auf Werte > 2 mmol/l (9. Tag) erfolgte.

Die Ketonkörperkonzentrationen (Abb. 8c, 8d) ließen innerhalb der ersten 10 h p. i. nur geringfügige Veränderungen erkennen. Ab 24 h war jedoch bei 3-Hydroxybutyrat wie auch bei Acetoacetat ein kontinuierlicher Anstieg zu verzeichnen, der in der Regel seine stärkste Ausprägung vom 7. bis zum 9. Tag zeigte, mit Maxima, die das 9fache der Normalwerte betrugen; Werte, die in der Praxis eigentlich nur von einer ausgeprägten klinischen Ketose bekannt sind. Die Verläufe der Ketonkörper (Abb. 8c, 8d) zusammen mit denen der Blutglucose (Abb. 8a) lassen einen gewissen funktionellen Zusammenhang zwischen beiden Metaboliten erkennen. So ist z. B. bei den Ziegen (Ge, E, Gi), mit nur geringen Veränderungen der Glucosekonzentrationen, weder bei 3-Hydroxybutyrat noch bei Acetoacetat ein Anstieg im Plasma zu verzeichnen.

3.4.2 Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Szn und Plasmaglukose

Wie zu erwarten war, zeigte zumindest das Verhalten der Blutglukose bei den einzelnen Tieren eine gewisse Abhängigkeit von der applizierten Szn-Dosis. Um diesen in Abb. 8 angedeuteten Zusammenhang objektivieren zu können, wurde der Blutglukosespiegel des 4. Tages (96 h p. i.) - hier hatte sich die Konzentration in der Regel bereits auf relativ konstante Werte eingependelt - zu den injizierten Szn-Dosierungen in Beziehung gesetzt (Abb. 9).

Dabei ergab sich eine aus der pharmakologischen Wirkung von Drogen her bekannte sigmoide Dosis-Wirkungs-Beziehung, die eine niedere (um 60 mg/kg) und eine hohe (um 80 mg/kg) Dosischwelle andeutet. Zwischen beiden ist eine steile nahezu lineare Abhängigkeit des Blutglukose von der Szn-Dosis zu verzeichnen. Eine weitere Dosissteigerung (> 80 mg/kg Körpergewicht) dagegen scheint keine zusätzlichen Auswirkungen mehr zu haben. Es bleibt, zumindest für diesen Zeitpunkt (96 h p. i.), bei einem maximalen Blutglukoseniveau von nahezu 15 mmol/l. Eine unerklärliche Ausnahme ist Ziege (Gi), bei der trotz hoher Dosis (85 mg/kg) nur eine vergleichsweise geringe Hyperglycämie zu verzeichnen war.

3.4.3 Beziehungen zwischen diabetischer Hyperglycämie und der Höhe der Ketonkörper Spiegel

Ein durch permanenten Insulinmangel reduzierter Glukosekatabolismus mit anhaltender Hyperglycämie bleibt nicht ohne Auswirkungen auf andere Bereiche des Energiestoffwechsels (z. B. Fettstoffwechsel). Eine vermehrte Bereitstellung von Fettsäuren aus den Fettdepots sowie deren metabolische Verwertung durch direkte Oxidation zu CO_2 bzw. über eine Umwandlung zu Ketonkörpern ist zwangsläufig die Folge. Die in Abbil-

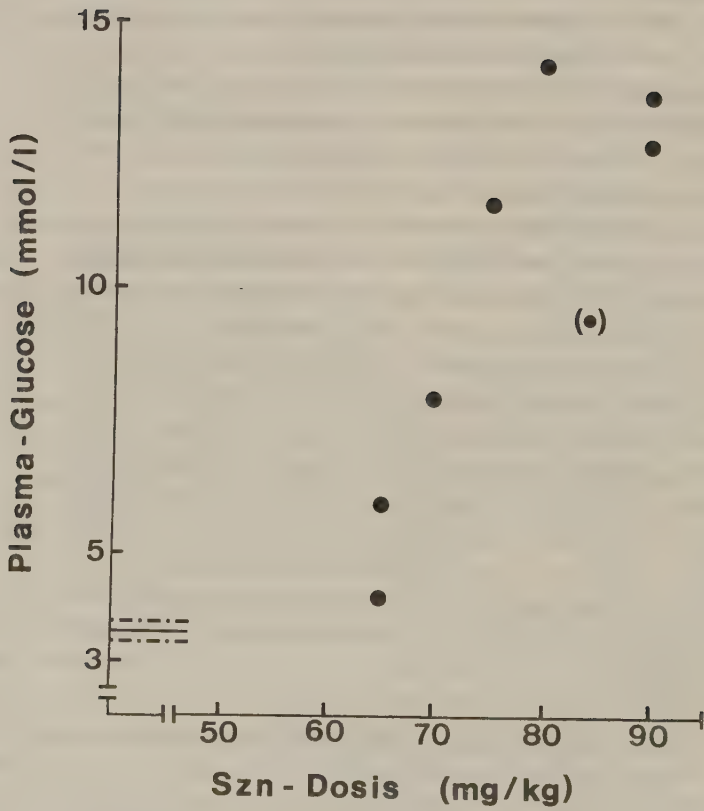


Abb. 9 : Dosis - Wirkung Beziehung zwischen Streptozotocin und der Glucose-Konzentration im Plasma

dung 8 gezeigten Konzentrationsveränderungen insbesondere bei Ketonkörpern waren deshalb für diabetische Ziegen nicht unerwartet.

In Tabelle 4 sind die über einen Zeitraum von 3 - 10 d p. i. gemittelten Konzentrationen von Glucose, Lactat, 3-Hydroxybutyrat und Acetoacetat und die jeweils zugehörige Szn-Dosis aufgeführt. Hinsichtlich der Höhe der Ketonkörperspiegel ist ein gewisser Zusammenhang nur in Verbindung mit der Höhe der Glucosespiegel, nicht dagegen von der Szn-Dosierung abzuleiten. Allein die Abnahme des Ketonkörperquotienten (3-HB/AcAc) von >6 auf <3 scheint mit der Dosis in Zusammenhang zu stehen. Für die Veränderungen am Lactatspiegel ist keinerlei Abhängigkeit zu erkennen.

In Abbildung 10 ist die Beziehung zwischen Glucosespiegel und 3-Hydroxybutyrat bzw. Acetoacetatspiegel etwas differenzierter wiedergegeben. Während bei Normal-Tieren mit zunehmendem Glucosespiegel eher eine Abnahme der 3-Hydroxybutyratspiegel zu verzeichnen war, zeigten die diabetischen Ziegen dagegen eine exponentielle Zunahme der beiden Ketonkörper. Diese Beziehung wurde mit zunehmendem zeitlichen Abstand von der Szn-Injektion immer steiler; zahlenmäßig erkennbar auch an den Steigungen b dieser Kurven.

3.4.4 Intravenöser Glucosetoleranztest zur Abgrenzung des Normalzustandes vom "milden" Diabetes mellitus

Nachdem bei Szn-Dosierungen von >70 mg/kg Körpergewicht zunehmend schwere ketotische Zustände auftraten z. B. mit Blutglucosekonzentrationen, die vom doppelten bis zum vierfachen des Normalwertes reichten und so kaum Zweifel am Vorhandensein einer diabetischen Stoffwechsellage aufkommen ließen, schien es jedoch notwendig für die niedrigste Dosierung von 65 mg/kg, bei der solche Metabolitveränderungen fehlten, einen möglichen milden diabetischen Zustand anderweitig zu bestätigen. Ein bei den betroffenen Ziegen vorgenom-

Tabelle 4: Mittlere Tagesspiegel von Glucose, Lactat, 3-Hydroxybutyrat und Acetoacetat nach Injektion verschiedener Dosen Streptozocin

Dosis Szn mg/kg KG	Glucose	Lactat	3-HB (mmol/l)	AcAc	3-HB/AcAc
65 (E)	4,04 ± 0,38	0,40 ± 0,16	0,18 ± 0,04	0,03 ± 0,002	6,1
65 (Ge)	5,17 ± 0,89	0,40 ± 0,10	0,13 ± 0,04	0,03 ± 0,004	4,2
70 (B)	11,67 ± 0,94	0,62 ± 0,13	1,48 ± 0,18	0,32 ± 0,160	4,6
75 (K)	11,61 ± 0,50	0,46 ± 0,06	0,62 ± 0,08	0,08 ± 0,017	7,7
80 (Z)	27,40 ± 3,90	2,27 ± 0,20	1,78 ± 0,17	0,57 ± 0,037	3,0
85 (Gi.)	6,17 ± 1,50	0,43 ± 0,07	0,15 ± 0,05	0,04 ± 0,010	3,7
90 (St)	11,39 ± 1,40	0,48 ± 0,02	1,73 ± 0,17	0,63 ± 0,083	2,8
90 (Sc)	11,20 ± 2,56	0,38 ± 0,03	1,67 ± 0,12	0,60 ± 0,098	2,8

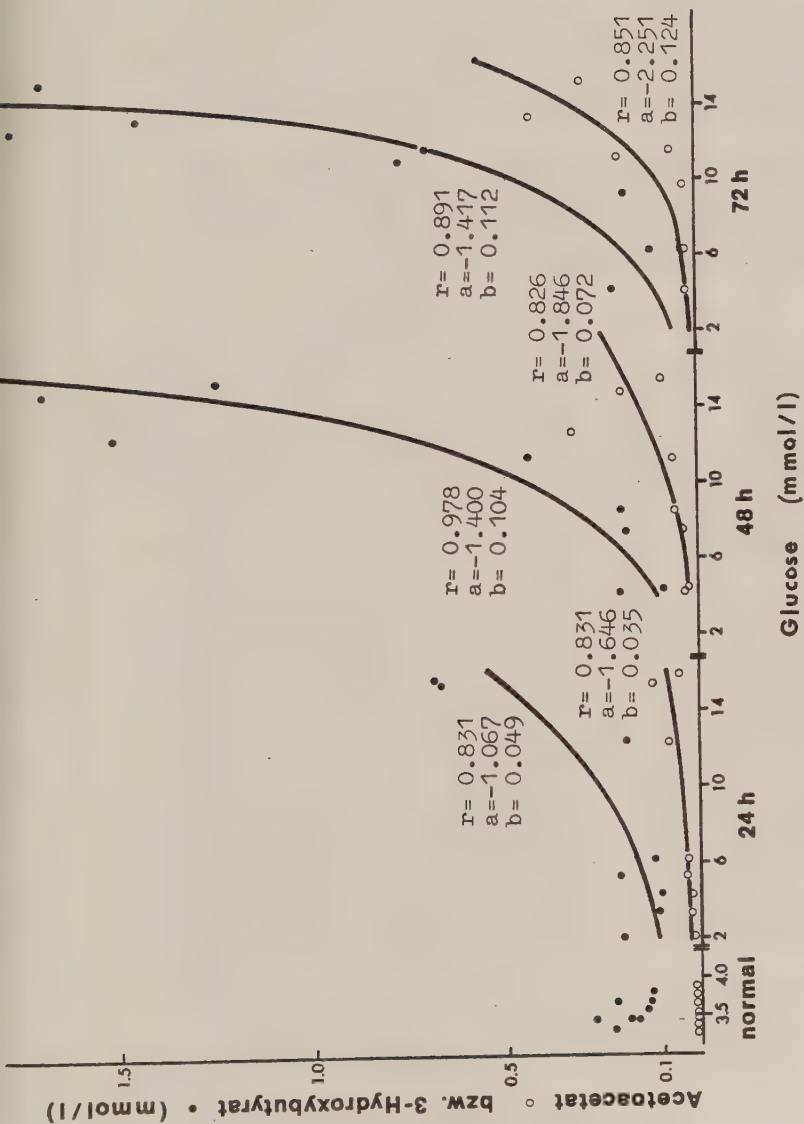


Abb. 10 : Anstieg der Ketonkörperkonzentrationen im Plasma in Abhängigkeit von der Glucosekonzentration im Plasma zu verschiedenen Zeiten nach Szn-Applikation

mener IVGTT, am 3. und 6. Tag p. i., sollte diesbezüglich Klarheit verschaffen.

Wie Abbildung 11 zeigt, waren die Ergebnisse dieser Tests eindeutig. Bei beiden Tieren war der insulinabhängige Glucosekatabolismus nach Szn-Applikation im Vergleich zu vorher deutlich reduziert. So dauerte die Elimination von i. v. zugeführter Extragluco- se rund doppelt so lange wie vor der Szn-Behandlung.

Die Reproduzierbarkeit dieser Veränderungen auch am 6. Tag p. i. läßt vermuten, daß auch bei diesen Tie- ren ein zwar milder, doch über einige Tage stabiler Diabetes eingetreten war.

3.4.5 Verluste von Glucose im Harn

Bei Blutglucosekonzentrationen, die zum Teil ein fünf- faches der Normalspiegel ausmachten, war zu erwarten, daß die maximale Transportkapazität für Glucose in der Niere überschritten wird und erhebliche Energieverluste durch Glucose im Harn stattfinden. In einem Zeitraum von 3 - 5 Tagen nach Einstellung des "Diabetes" wurde des- halb die Glucoseausscheidung im 24-Stunden-Harn der Ziegen kontrolliert. Dabei zeigte die renale Glucose- ausscheidung bezogen auf die jeweils aktuelle Blut- glucosekonzentration ein deutliches Schwellenverhal- ten (Abb. 12) und zwar in der Form, daß erst nach überschreiten eines bestimmten Schwellenwertes im Blut, der zwischen 6 - 11 mmol/l zu liegen scheint, der Glucoseverlust steil zunimmt. Eine exaktere An- gabe der Nierenschwelle für Glucose bei Zwergziegen läßt sich wegen fehlender Meßpunkte im Blutglucose- konzentrationsbereich von 6 - 11 mmol/l nicht machen.

3.5 Längerfristige Auswirkungen des "diabetischen" Zustandes auf Körpergewicht und Gesundheit der Tiere

Bei den jeweils zwei Ziegen mit niedrigster (Ge, E: milde Hyperglycämie) bzw. höchster Szn-Dosierung (Sc, St: deutliche Hyperglycämie) wurde neben der Blut-

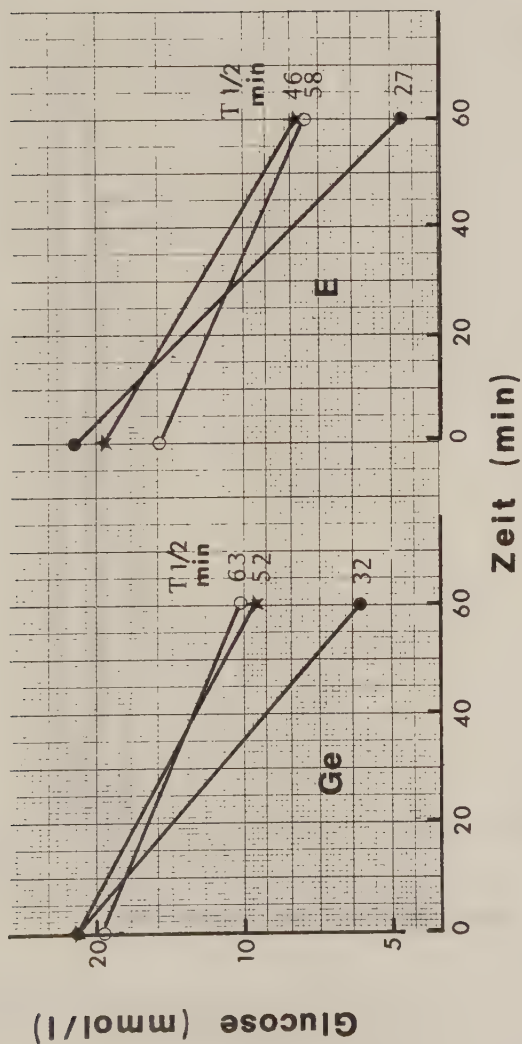


Abb. 11 : Intravenöser Glucose-Toleranz-Test (IVGTT) bei 2 Ziegen nach Applikation von Szn (65 mg/kg KG)

● T1/2 vor Szn-Injektion; ○ T1/2 3 Tage p.i.; ★ T1/2 6 Tage p.i.
(Einzeldaten s. Anhang 2)

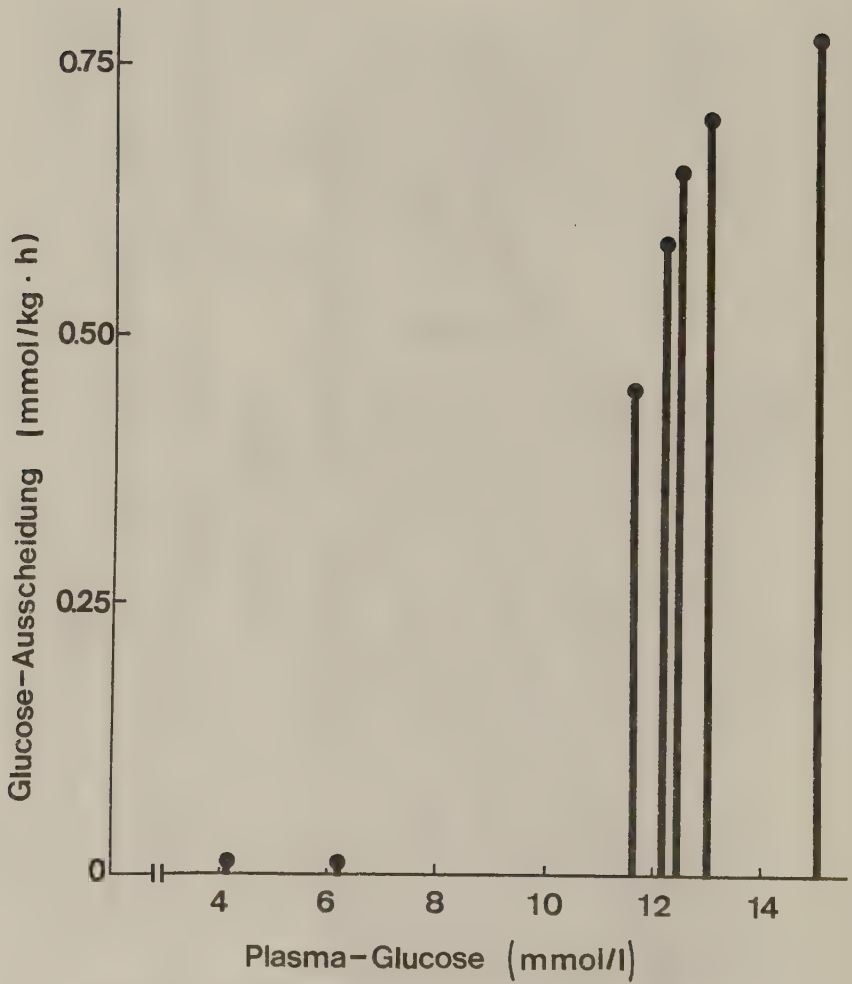


Abb. 12 : Beziehung zwischen der Glucosekonzentration im Plasma und der Glucoseausscheidung im Harn bei "diabetischen" Zwergziegen

glucosekonzentration auch das klinische Bild des Diabetes mellitus über einen Zeitraum von 60 Tagen verfolgt. Ein nicht unerwarteter Zusammenhang war dabei zwischen Höhe und Dauer der Hyperglycämie und einer Abnahme des Körpergewichtes zu verzeichnen. Bei den beiden Ziegen (Sc, St) mit Blutwerten von rund 10 mmol/l Plasma im gesamten Beobachtungszeitraum war ein Gewichtsverlust von insgesamt nahezu 40 % festzustellen (Abb. 13).

Zu diesen besagten Gewichtsveränderungen trug auch bei, daß bei St und Sc ein gewisser Verlust des Appetits auftrat. Bei letzteren konnte zudem eine Minderung der Pansenmotorik und des Wiederkauens, eine Obstipation mit Verfestigung der Fäces, eine Verhaltensdepression bis hin zur Somnolenz und eine auffällige Resistenzminderung mit gesteigerter Infektionsbereitschaft (Pneumonie, Conjunctivitis, Räude etc.) festgestellt werden.

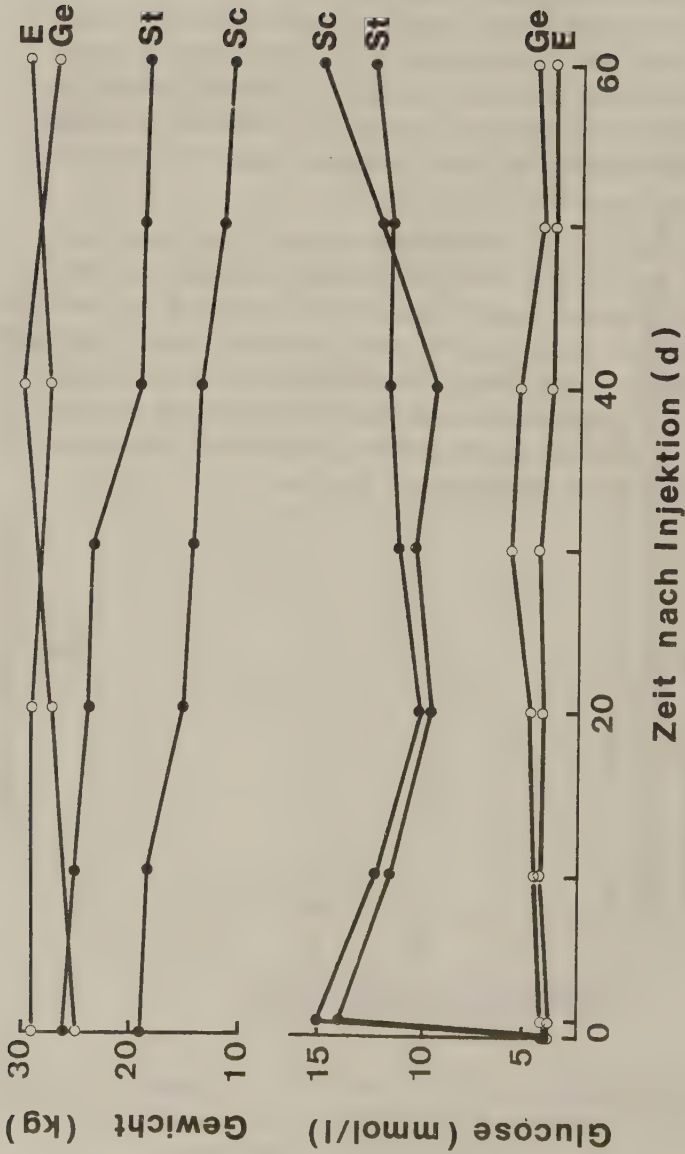


Abb. 13 : Glucosespiegel im Plasma und Veränderungen des Körpergewichtes bei "mildem" (○ = 65 mg Szn/kg) und "schwerem" (● = 90 mg Szn/kg) Diabetes

4. DISKUSSION

4.1. Normalwerte bei der Zwergziege

Bei einem Vergleich der mittleren Blutkonzentrationen von unter identischen äußeren Bedingungen gehaltenen Zwergziegen (3.6 ± 0.18 mmol/l) und Schafen (3.4 ± 0.25 mmol/l Plasma), läßt sich ein zwar um rund 4 % höherer Wert bei den Ziegen feststellen (Tab. 2), jedoch ist dieser Unterschied zu vernachlässigen, da diese Konzentrationsdifferenzen noch innerhalb des Streubereiches der Glucosekonzentrationen der Zwergziegen liegen.

Einige aus der Literatur herangezogenen Glucosekonzentrationen aus dem venösen Blutplasma von Schafen (mmol/l): 3.44 (BERGMAN u. Mitarb., 1968), 3.83 (STEEL u. LENG, 1973) und 3.84 (REILLY u. CHANDRASENA, 1978) bzw. von Ziegen: 3.01 (SCHWALM u. SCHULTZ, 1975) lassen vermuten, daß die Blutglucosekonzentrationen von Zwergziegen mit denen anderer kleiner Hauswiederkäuer zu vergleichen sind. Für nicht laktierende Rinder wird von BAIRD u. HEITZMAN (1970) eine Glucosekonzentration von 2.85 mmol/l Plasma angegeben. Die bei den Ziegen und Schafen im Tagesverlauf (7.30 - 15.30 Uhr) untersuchten Blutglucosekonzentrationen geben einen mehr oder weniger deutlichen Anstieg der Werte (Abb. 4 u. 5) um die Mittagszeit (11.30 - 15.30 Uhr) zu erkennen. Demnach könnte sich ein Zusammenhang zwischen der Nahrungsaufnahme und einer Erhöhung des Blutzuckerspiegels auch bei Wiederkäuern vermuten lassen. Ähnliche Beobachtungen einer Veränderung postprandial entnommener Blutproben wurden von GÜNZEL (1973), HAGEMEISTER u. UNSHELM (1969), REISINGER (1968) und PAGE u. Mitarbeiter (1960) gemacht, obwohl andererseits eine Beeinflussung des Blutglucosegehaltes bei Wiederkäuern durch die Fütterung bestritten wird (OTCHERE u. Mitarbeiter, 1974; KANEKO, 1980).

Eine Varianzanalyse sollte die Ursachen, die für die Streuung der untersuchten Metabolite verantwortlich waren, näher abzugrenzen helfen (Tab. 3). Dabei zeigt sich, daß der Einfluß des Faktors Tageszeit auf die Gesamtvarianz der Glucose-

konzentrationen zwar noch signifikant ist, sich aber im Vergleich zu den Einflüssen von Individualität der Tiere und Tag der Probenentnahme nur gering ausnimmt.

Der große Einfluß des Faktors Individualität der Tiere, der auch bei der Streuungszerlegung der Lactat- und 3-HB-Konzentrationen zu verzeichnen ist, zeigt die Schwierigkeit auf, inwieweit Meßdaten an verschiedenen Tieren direkt vergleichbar sind und daß die individuellen Unterschiede entsprechende Beachtung verdienen.

Der ebenfalls noch hochsignifikante Einfluß des Faktors Tag der Probenentnahme auf die Gesamtvarianz der Konzentrationen von Glucose, Lactat und 3-Hydroxybutyrat läßt sich nicht eindeutig klären. Witterungsbedingte Einflüsse (Temperatur, Licht etc.) auf die untersuchten Metabolite lassen sich zumindest aufgrund der relativ konstant bleibenden Haltungsbedingungen mit ziemlicher Sicherheit ausschließen.

Die Plasmalactatspiegel der Zwergziegen (Tab.2), die in einem Konzentrationsbereich von 0.39 ± 0.04 mmol/l liegen, können mit denen von Schafen, die von REILLY u. CHANDRASENA (1978) mit 0.4 (0.25 - 0.55) mmol/l angegeben werden, verglichen werden. Die auffallend geringen Streuungen der Lactatkonzentration (Abb.4) bei unseren Zwergziegen, könnten auf eine weitgehend stressfreie Blutentnahme zurückzuführen sein, da Plasmalactat ein sehr stressemphindlicher Metabolit ist.

Bei einem Vergleich der Ketonkörperkonzentrationen im Plasma der Zwergziegen von 3-HB (0.19 ± 0.053 mmol/l) und AcAc (0.035 ± 0.0048 mmol/l) mit den von BAIRD u. HEITZMAN (1970) bei gesunden, nichtlaktierenden Kühen gefundenen Werten von 0.25 ± 0.11 (3-HB) bzw. 0.011 ± 0.004 (AcAc) fällt auf, daß die Werte für 3-HB vergleichbar sind, hingegen erwiesen sich die AcAc-Konzentrationen bei den Zwergziegen als rund 3mal so hoch. Den zum Teil erheblichen Schwankungen und im mittleren Tagesverlauf zu verzeichnenden Anstieg von AcAc (Abb.4) kommt aufgrund des nur geringen Stichprobenumfanges

keine signifikante Bedeutung zu. Demzufolge läßt sich der Ketonkörperquotient (3-HB/AcAc), in den die Acetoacetatkonzentrationen direkt eingehen, nicht mit den Angaben für andere Wiederkäuer vergleichen.

Der bei Ziegen und Schafen durchgeführte IVGTT sollte dazu dienen, die Metabolisierung von Glucose in verschiedenen Stoffwechselzuständen zu verfolgen, nicht aber tierartige Unterschiede herauszustellen. Trotzdem fällt bei einem Vergleich der Eliminationsgeschwindigkeiten auf, daß die Schafe nahezu doppelt so lange brauchten, die extra zugeführte Glucose zu eliminieren. Eine Erklärung könnte darin gefunden werden, daß die Dosierung der Glucose auf kg KG bezogen wurde, nicht aber auf die Stoffwechselgröße. Bei einem Vergleich der durchschnittlichen Körpergewichte von Schafen (61.3 kg) mit denen von Zwergziegen (22.0 kg) ergab sich bei Umrechnung auf die metabolische Körpergrößen von Schafen ($21.9 \text{ kg}^{0.75}$) und von Ziegen ($10.1 \text{ kg}^{0.75}$) ein Verhältnis von 2:1, das in etwa dem Verhältnis der Eliminationsgeschwindigkeiten entsprach.

4.2. Streptozotocin (Szn) zur Induzierung eines experimentellen Diabetes bei Zwergziegen

Wie in den Ergebnissen dargelegt ist, kann mit Szn bei Schaf und Zwergziege ein experimenteller Diabetes ausgelöst werden. Dies wurde durch den biochemisch geführten Nachweis einer Erhöhung der Blutkonzentrationen von Metaboliten des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels festgestellt. Das Vorliegen eines "echten" Diabetes mellitus konnte anhand von Messungen der Insulinkonzentrationen von STANGASSINGER u. PERUCHE (1981) bestätigt werden. Unsere Ergebnisse stehen in dieser Hinsicht mit den Untersuchungen an Ratte und Hund (RAKIETEN u. Mitarbeiter, 1963), Maus (EVANS u. Mitarbeiter, 1965; SCHEIN u. Mitarbeiter, 1967; LOGOTHETOPOULOS u. BROSKY, 1968) in Einklang, nach denen Szn zu einer Zerstörung der β -Zellen in den Langerhans'schen Inseln und damit zu einem Insulinmangeldiabetes führt. Außerdem stimmen unsere Befunde darin mit ver-

schiedenen Autoren (HAAKE, 1969; JUNOD u. Mitarbeiter, 1969; GANDA, 1976) überein, daß eine quantitative Dosis-Wirkungs-Beziehung vorliegt. Die bei unseren Untersuchungen vermutete untere und obere Grenzdosis (d.h. Dosierungen, die bei Unter- oder Überschreitung keine wesentliche Wirkungsmin-derung bzw. Steigerung hervorrufen) von 60 - 80 mg Szn/kg KG und der steile Anstieg der Dosis-Wirkungsbeziehung, lassen bei Wiederkäuern eine bedeutend geringere Wirkungsbreite als z. B. bei Ratten vermuten, bei denen JUNOD und Mitar-beiter (1969) mit Szn in Dosierungen von 25 - 100 mg/kg KG dosisabhängig verschieden schwere diabetische Zustände er-zeugen konnte. Die Folgeerscheinungen, wie z.B. Hyperglycämie, Glucosurie, Ketonurie etc., waren graduell den jeweiligen Dosierungen zugeordnet.

Von besonderem Interesse dürfte ein Wirkungsvergleich von Alloxan- und Szn-Diabetes bei Wiederkäuern sein. Untersu-chungen an Schafen (REID u. Mitarbeiter, 1963; JARRETT u. Mitarbeiter, 1974) sowie an Ziegen (SCHWALM u. SCHULTZ, 1975) mit Dosierungen von 20 - 60 mg Alloxan/kg KG zeigten zwar auch hier eine lineare Wirkungsbeziehung mit Folgeerschei-nungen, wie bei Szn-Diabetes beobachtet werden konnten, je-doch gingen die Tiere in der Regel bereits 10 - 16 Tage p.i. ein, bzw. machten eine ständige Insulinsubstitution erforder-lich. Eine Kontrolle der Metabolitveränderungen über einen längeren Zeitraum, ist aufgrund der hohen Toxizität von Alloxan nicht möglich. Hingegen war bei unseren Szn-diabe-tischen Zwergziegen eine Kontrolle der Metabolitveränderung über 2 Monate möglich.

Auf welche Weise Szn in den Stoffwechsel der β -Zellen ein greift, ist noch nicht geklärt. Da Szn bei Mäusen den Nico-tinsäureadenindinucleotid-Gehalt (NAD) der Leber und ver-schiedener Tumoren reduzierte und dieser Effect durch Nico-tinsäureamid aufgehoben werden konnte (SCHEIN u. Mitarbei-ter, 1967), wurde diskutiert, daß die diabetogene Wirkung der Substanz durch eine - bei Applikation von Nicotinsäure-amid reversible - Abnahme der NAD-Konzentration in den β -Zel-len hervorgerufen wird, entweder als Folge einer einge-schränkten Synthese oder eines erhöhten Abbaues (SCHEIN u. Mitarbeiter, 1967; DULIN u. WYSE, 1969).

Der Effekt von Szn würde damit letzten Endes auf einer Störung des cellulären Wasserstofftransportes und damit auch der Zellatmung beruhen.

Der bei den Zwergziegen in einem Zeitraum von 24 h nach der i.v. Injektion von Szn auftretende 3-phasige Verlauf der Blutglucosekonzentrationen weist darauf hin, daß die Substanz offenbar zeitlich unterschiedliche Wirkungen auf die β -Zellen ausübt. Untersuchungen von FRERICH'S u. CREUTZFELD (1969) haben gezeigt, daß Langerhans'sche Inseln von Ratten, die eine Stunde nach Behandlung mit Szn isoliert wurden, in vitro auf einen Glucosezusatz nicht mit einer Insulinausschüttung reagierten. Daraus wurde geschlossen, daß die primäre Hyperglycämie, die zu einem Zeitpunkt auftritt, zu dem noch keine Degranulation und andere deutliche morphologischen Veränderungen der β -Zellen sichtbar sind (JUNOD u. Mitarbeiter, 1967), auf einer Hemmung der Insulinabgabe der β -Zellen beruht. Die nachfolgende Hypoglycämie ist auf eine Freisetzung des gesamten, granulär gespeicherten Insulins aus der Bauchspeicheldrüse, mit einem Anstieg des Seruminsulin-Gehaltes, zurückzuführen. Die im weiteren Verlauf auftretende permanente Hyperglycämie ist dann die Folge histologisch nachweisbarer Nekrosen der β -Zellen (JUNOD u. Mitarbeiter, 1967; 1969; STAUFFACHER u. Mitarbeiter, 1970;) mit einem daraus resultierenden Insulinmangel. Diese Beobachtung hat zur Folge, daß bei Szn-Diabetes Blutglucoseveränderungen erst 24 - 48 h p.i., nach einer Beruhigung der Konzentrationsverläufe, hinsichtlich ihrer Höhe beurteilt werden können (s.Abb.8).

4.3. Auswirkungen des diabetischen Zustandes auf die Stoffwechsellage

Die von Blutglucosespiegeln von 10 mmol/l an auftretende Glucosurie ist ein Ausdruck der überschrittenen Transportkapazität der Niere und zieht erhebliche Energieverluste in Form von Glucose, bis zu maximal 80 g/Tier und Tag, nach sich. Nach STANGASSINGER u. PERUCHE (1981) entspricht dieser Glucoseverlust etwa 50 % des Gesamtglucoseumsatzes der Zwerg-

ziegen. ANNISON und Mitarbeiter (1974) und BICKERSTAFF u. Mitarbeiter (1974) geben die Glucoseaufnahme der Milchdrüse einer laktierenden Kuh (bei 30 Liter Milchleistung) mit 2000 g/Tier und Tag an. Beim Schaf gegen Ende der Trächtigkeit werden von CHRISTENSON u. PRIOR (1978) ein Glucosebedarf von 100 g/Tier und Tag für Uterus bzw. Fetus angegeben. In beiden Fällen, sowohl beim Rind wie auch beim Schaf, entspricht das nach Untersuchung der Autoren 50 - 90 % des auf das jeweilige Tier bezogenen Gesamtglucoseumsatzes.

Vergleicht man nun den Energieabfluß über den Harn bei diabetischen Zwergziegen mit demjenigen der laktierenden Kuh in die Milchdrüse bzw. des graviden Schafes in Uterus und Fetus, so lassen sich hinsichtlich des prozentualen Anteils des Glucoseabflusses Parallelen ziehen. Die Folge dieses Energie-Defizits, bei unzureichender Nährstoffversorgung bzw. mangelnder Resorption wie beim Diabetes, ist eine katabole Stoffwechsellage. Der Organismus wird gezwungen dies durch Einschmelzen von Körpersubstanz, vermutlich zunächst Fett und später auch Protein auszugleichen. Gewichtsabnahmen, wie bei den 2 Ziegen mit schwerem Diabetes sind die zwingende Folge (Abb.13). Der erhöhte Anfall von Abbauprodukten des Fettstoffwechsels ist ein Ausdruck der überforderten Regulationsmechanismen und manifestiert sich in einem Anstieg der Ketonkörperkonzentrationen im Blut. Die in zeitlich unterschiedlichem Abstand von der Szn-Applikation aufgetragenen Ketonkörperspiegeln von 3-HB und AcAc (Abb.10), in Abhängigkeit der jeweiligen Blutglucosekonzentrationen, lassen erkennen, daß mit längerem Bestehen der energetisch ungünstigen Stoffwechselsituation die Konzentrationen der Ketonkörper im Plasma zunehmen. Erst nach einem Zeitraum von 5 - 7 Tagen p.i. (Abb.8) pendeln sich die Konzentrationen auf ein relativ konstantes Niveau ein. Die Verschiebung des Ketonkörperquotienten (3-HB/AcAc) auf Werte < 3 ist die Folge einer erhöhten hepatischen Ketogenese.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß mit einer einmaligen Szn-Injektion bei Zwergziegen langfristig sta-

bil bleibende, dosisabhängig unterschiedliche diabetische Auswirkungen erzeugt werden können. Außerdem läßt sich folgern, daß Szn für Modelluntersuchungen über Diabetes beim Wiederkäuer weitaus besser geeignet erscheint als Alloxan. Metabolische Folgeerscheinungen, die sich besonders in der Zunahme von 3-HB und AcAc widerspiegeln, sind in mancher Hinsicht denen bei laktierenden Kühen und Schafen vergleichbar.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Um bei Wiederkäuern den Energiestoffwechsel langfristig und über einen weiten Bereich variieren zu können, wurde bei 8 Zwergziegen durch steigende Dosierungen von Streptozotocin (Szn) ein experimenteller Diabetes mellitus induziert. Schweregrad und Verlauf des Diabetes wurden anhand der Konzentrationsveränderungen von Glucose (Glc), Lactat (Lct), 3-Hydroxybutyrat (3-HB) und Acetoacetat (AcAc) im venösen Blutplasma, der Glucoseausscheidung im Harn und einer Gewichtskontrolle verfolgt.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

1. Im Normalzustand lagen die Tagesmittelwerte von Glc bei 3.60 ± 0.18 mmol/l und die weiteren Lct, 3-HB und AcAc in dem für Wiederkäuer physiologischen Bereich.
2. Es war ein signifikanter Einfluß der Faktoren Individualität der Tiere und Tag der Probengewinnung, jedoch nicht des Faktors Tageszeit der Probenentnahme auf die Varianz dieser Mittelwerte feststellbar.
3. Die im Intravenösen-Glucose-Toleranz-Test (IVGTT) gemessenen Halbwertszeiten der Glucose-Elimination betrugen im Mittel 28.2 ± 5.6 min.
4. Im Dosisbereich von 65 - 90 mg Szn/kg KG stiegen die Plasmaglucosespiegel annähernd linear von 4 - 14 mmol Glucose/l Plasma.
5. Während 3-HB und AcAc 3 Tage p.i. in Abhängigkeit von den jeweiligen Glucosekonzentrationen anstiegen, zeigten die Plasmalactatspiegel kaum Veränderungen.
6. Bei der niedrigsten Szn-Dosis von 65 mg/kg KG blieb der Glucosespiegel nahezu unverändert, aber die im IVGTT gemessene Halbwertszeit verdoppelte sich.
7. Bei maximaler Szn-Dosis und Plasmaglucosekonzentration von über 14 mmol/l stieg die renale Glucoseausscheidung auf rund 80 g/Tag und Tier.

8. Milder und schwerer Szn-Diabetes blieben bis zu 60 Tagen stabil. Im letzteren Fall traten in dieser Zeit Gewichtsverluste bis zu 40 % auf.

Die Ergebnisse wurden im Hinblick auf Eignung von Szn zur Erzeugung eines graduellen Diabetes bei der Zwergziege diskutiert.

SUMMARY

In order to vary the energy metabolism of ruminants over a long period of time and a wide range, an experimental diabetes was induced in 8 pygmy goats by increasing doses of Streptocotocin. The severity and the development of diabetes were observed by means of varying concentrations of glucose, lactate, 3-hydroxybutyrate and acetoacetate in venous blood plasma, glucosuria and body weight control.

The following results have been obtained:

1. Under normal conditions the daily medium values of glucose, amounted to 3.60 ± 0.18 mmol/l and the other lactate, such as 3-hydroxybutyrate and acetoacetate were in the physiological range for ruminants.
2. A significant influence of the factors individuality of animals and day of sampling on the variance of these medium values could be obtained, but not of the factors daytime of sampling.
3. The half life of plasma glucose measured in intravenous glucose-tolerance-test amounted to an average of 28.2 ± 5.6 min.
4. Scn at 65 - 90 mg/kg body weight induced an almost linear increase of plasma glucose from 4 - 14 mmol/l.
5. 3-hydroxybutyrate and acetoacetate increased 3 days p.i. correlating with the respective glucose concentrations, whereas the plasma lactate concentrations showed hardly any change.
6. At a minimum Scn-doses of 65 mg/kg body weight, glucose concentrations remained nearly unchanged but half life of plasma glucose in IVGTT doubled.
7. At a maximum Scn doses and plasma glucose concentrations of above 14 mmol/l the renal glucose excretion increased up to about 80 g per day and animal.
8. Mild and severe Scn diabetes remained stable up to 60 days. in case of the latter, a decrease of body weight up to 40 % could be observed.

The results were discussed in view of the usability of Scn in order to induce varying degrees of diabetes in pygmy goats.

6. TABELLENANHANG

Anhang 1 (zu Abbildung 1 - 4)

Mittlere Plasmakonzentrationen (mmol/l) der Versuchstage zu den Tageszeiten der Probenentnahmen

Tier	Metabolit	7.30	9.30	11.30	13.30	15.30 Uhr
E	Glucose	3.39±0.16	3.24±0.24	3.57±0.05	3.38±0.16	3.53±0.20
K	(n=5)	3.69±0.25	3.37±0.19	3.76±0.30	3.92±0.38	4.16±0.61
Z		3.65±0.19	3.57±0.22	3.42±0.16	3.35±0.25	3.40±0.28
B		3.40±0.10	3.38±0.13	3.50±0.07	3.49±0.07	3.45±0.16
Gi		3.66±0.11	3.60±0.23	3.80±0.06	3.67±0.41	4.04±0.33
Sc		3.56±0.24	3.63±0.14	3.59±0.12	3.82±0.19	3.72±0.20
Ge		3.39±0.19	3.41±0.21	3.27±0.11	3.26±0.19	3.47±0.30
St		3.73±0.34	3.78±0.42	3.80±0.32	3.79±0.43	3.69±0.38
		3.56±0.15	3.50±0.18	3.55±0.20	3.59±0.25	3.68±0.28
E	Lactat	0.46±0.09	0.50±0.14	0.46±0.12	0.39±0.08	0.37±0.04
K	(n=5)	0.40±0.02	0.40±0.05	0.37±0.02	0.43±0.05	0.41±0.05
Z		0.34±0.08	0.39±0.09	0.33±0.02	0.31±0.01	0.35±0.04
B		0.38±0.04	0.36±0.08	0.38±0.02	0.37±0.02	0.35±0.05
Gi		0.35±0.11	0.33±0.06	0.32±0.09	0.29±0.08	0.36±0.06
Sc		0.53±0.06	0.44±0.07	0.44±0.07	0.45±0.08	0.39±0.02
Ge		0.42±0.03	0.37±0.07	0.47±0.12	0.41±0.09	0.50±0.09
St		0.36±0.03	0.41±0.05	0.39±0.04	0.40±0.03	0.44±0.10
		0.41±0.06	0.40±0.05	0.39±0.06	0.38±0.05	0.396±0.05

Zi: liegen

Zieleren						
	$\frac{3-HB}{(n=5)}$					
E	0.196 $\pm$ 0.045	0.189 $\pm$ 0.038	0.184 $\pm$ 0.030	0.195 $\pm$ 0.018	0.204 $\pm$ 0.053	
K	0.134 $\pm$ 0.014	0.124 $\pm$ 0.012	0.138 $\pm$ 0.042	0.154 $\pm$ 0.031	0.138 $\pm$ 0.037	
Z	0.289 $\pm$ 0.032	0.313 $\pm$ 0.023	0.293 $\pm$ 0.050	0.266 $\pm$ 0.061	0.240 $\pm$ 0.043	
B	0.178 $\pm$ 0.049	0.180 $\pm$ 0.014	0.182 $\pm$ 0.015	0.193 $\pm$ 0.052	0.161 $\pm$ 0.009	
Gi	0.227 $\pm$ 0.045	0.232 $\pm$ 0.078	0.208 $\pm$ 0.022	0.259 $\pm$ 0.025	0.237 $\pm$ 0.030	
Sc	0.138 $\pm$ 0.029	0.135 $\pm$ 0.030	0.142 $\pm$ 0.013	0.151 $\pm$ 0.024	0.129 $\pm$ 0.010	
Ge	0.203 $\pm$ 0.033	0.190 $\pm$ 0.060	0.232 $\pm$ 0.040	0.218 $\pm$ 0.014	0.252 $\pm$ 0.032	
St	0.165 $\pm$ 0.027	0.124 $\pm$ 0.011	0.146 $\pm$ 0.014	0.127 $\pm$ 0.011	0.135 $\pm$ 0.036	
	0.192 $\pm$ 0.053	0.186 $\pm$ 0.064	0.191 $\pm$ 0.053	0.195 $\pm$ 0.050	0.187 $\pm$ 0.052	
E	$\frac{AcAc}{(n=3)}$					
E	0.032 $\pm$ 0.004	0.029 $\pm$ 0.006	0.030 $\pm$ 0.004	0.031 $\pm$ 0.009	0.025 $\pm$ 0.004	
K	0.030 $\pm$ 0.008	0.033 $\pm$ 0.001	0.032 $\pm$ 0.003	0.050 $\pm$ 0.005	0.043 $\pm$ 0.004	
Z	0.029 $\pm$ 0.002	0.028 $\pm$ 0.001	0.033 $\pm$ 0.004	0.037 $\pm$ 0.008	0.033 $\pm$ 0.002	
B	0.038 $\pm$ 0.006	0.033 $\pm$ 0.001	0.038 $\pm$ 0.005	0.040 $\pm$ 0.006	0.041 $\pm$ 0.008	
Gi	0.024 $\pm$ 0.007	0.029 $\pm$ 0.008	0.026 $\pm$ 0.009	0.036 $\pm$ 0.013	0.031 $\pm$ 0.001	
Sc	0.026 $\pm$ 0.012	0.038 $\pm$ 0.009	0.039 $\pm$ 0.024	0.056 $\pm$ 0.018	0.042 $\pm$ 0.006	
Ge	0.026 $\pm$ 0.004	0.029 $\pm$ 0.005	0.034 $\pm$ 0.009	0.035 $\pm$ 0.009	0.031 $\pm$ 0.006	
St	0.037 $\pm$ 0.008	0.048 $\pm$ 0.008	0.046 $\pm$ 0.006	0.041 $\pm$ 0.004	0.043 $\pm$ 0.009	
	0.030 $\pm$ 0.005	0.033 $\pm$ 0.006	0.035 $\pm$ 0.006	0.041 $\pm$ 0.008	0.036 $\pm$ 0.007	

Schärfen						
A	Glucose	3.50	3.17	3.39	3.50	3.56
B		3.28	3.11	4.11	4.22	3.83
C		2.83	2.88	3.44	3.56	3.50
		$\bar{x}$	3.20	3.65	3.76	3.63

Anhang 2 (zu Tabelle 3 und Abbildung 1)

Mittlere Plasmakonzentrationen (mmol/l) beim Intravenösen-Glucose-Toleranz-Test nach i.v. Injektion von 0.5 g Glucose/kg KG

min p.i.	Schaf			Ziege									
	A	B	C	K	St	Gi	B	Sc	Z	Ge		E	
										a	b	a	b
5	20.3	18.0	20.4	22.5	21.1	21.1	20.6	18.6	16.6	20.2	20.1	21.3	19.6
10	16.4	15.4	17.3	18.3	17.7	18.1	16.7	16.5	14.4	17.7	17.6	19.0	16.5
15	15.3	13.9	15.1	16.2	15.0	14.7	14.9	13.7	11.9	15.4	16.4	17.6	14.7
20	14.7	12.6	14.5	15.0	13.4	12.1	12.9	12.9	9.9	13.7	15.4	15.9	13.6
30	12.7	11.1	12.9	13.1	10.0	8.5	10.4	10.2	7.9	11.2	13.8	13.8	10.3
40	11.7	9.6	11.7	12.1	7.0	6.4	8.2	7.8	5.9	9.2	12.3	12.4	7.9
50	10.1	7.6	10.6	9.0	5.8	3.2	6.2	5.8	4.4	7.4	11.2	11.1	6.1
60	9.2	7.7	9.8	8.1	3.8	3.1	5.2	4.5	3.6	5.9	11.0	10.2	4.8
1	3	3	3	3	2	2	3	3	2	3	1	1	3
2	0.014	0.014	0.013	0.017	0.030	0.028	0.025	0.028	0.030	0.022	0.012	0.013	0.026
3													
4													
5													
6													
7													
8													
9													
10													
11													
12													
13													
14													
15													
16													
17													
18													
19													
20													
21													
22													
23													
24													
25													
26													
27													
28													
29													
30													
31													
32													
33													
34													
35													
36													
37													
38													
39													
40													
41													
42													
43													
44													
45													
46													
47													
48													
49													
50													
51													
52													
53													
54													
55													
56													
57													
58													
59													
60													
61													
62													
63													
64													
65													
66													
67													
68													
69													
70													
71													
72													
73													
74													
75													
76													
77													
78													
79													
80													
81													
82													
83													
84													
85													
86													
87													
88													
89													
90													
91													
92													
93													
94													
95													
96													
97													
98													
99													
100													

a = normal; b = diabetisch 3 Tage p.i.; c = diabetisch 6 Tage p.i.;

Anhang 3 (zu Abbildung 7)

Verlauf der Konzentrationen (mmol/l) verschiedener Metabolite im Blutplasma nach i. v. Applikation von Alloxan:

Schaf A, 65 mg/kg KG

		<u>Zeit p. i.</u>	<u>Glucose</u>	<u>Lactat</u>	<u>3-HB</u>	<u>AcAc</u>
<u>Stunden</u>		0	3,78	0,70	0,39	0,046
		2	7,50	-	0,29	0,046
		3	8,61	1,36	0,36	0,051
		4	10,50	-	0,38	0,051
		5	12,00	0,99	0,40	0,060
		6	12,56	-	0,26	0,046
		8	12,17	1,07	0,23	0,049
		10	10,83	-	0,16	0,041
		15	9,06	0,96	0,28	0,051
		24	6,50	1,68	0,31	0,067
		26	7,39	-	0,30	0,065
		30	8,44	-	0,24	0,057
		32	9,06	2,18	0,29	0,074
		48	14,22	-	0,37	0,039
		52	15,44	3,12	0,36	0,042
		56	17,78	-	0,52	0,068
<u>Tage</u>		3	22,78	1,73	1,39	0,225
		4	20,94	-	1,64	0,440
		5*	20,22	1,52	-	-
			21,00	-	1,69	0,602
		6	18,50	1,49	1,85	0,450
			17,06	1,63	1,92	0,660
		7	16,83	1,84	1,90	0,700
			16,78	1,36	1,90	0,670
		8	16,78	1,91	1,95	0,660
		9	15,44	1,31	1,90	0,520
			14,39	1,30	1,90	0,630
		10	16,89	-	-	-
			-	1,13	1,90	0,530
			12,22	-	-	-
		11	15,61	1,13	2,10	0,540
		12	13,56	1,17	2,10	0,670
		13	16,17	1,84	2,10	0,720

*Bei zwei Werten Blutentnahmen um 9.00 bzw. 15.00 Uhr

Anhang 4 (zu Abbildung 7)

Verlauf der Konzentrationen (mmol/l) verschiedener Metabolite im Blutplasma nach i. v. Applikation von Szn:

Schaf C, 65 mg/kg KG

<u>Zeit p. i.</u>		<u>Glucose</u>	<u>Lactat</u>	<u>3-HB</u>	<u>AcAc</u>
<u>Stunden</u>	0	2.83	0.44	0.29	0.036
	2	3.67	0.42	0.89	0.050
	3	3.67	0.49	1.06	0.104
	4	4.72	0.53	0.79	0.101
	5	6.11	0.46	0.48	0.099
	6	7.94	0.41	0.32	0.091
	8	9.06	0.51	0.36	0.070
	10	8.83	0.39	0.28	0.059
	15	9.22	0.51	0.22	0.043
	24	13.28	0.49	0.30	0.052
	30	13.83	-	0.22	0.035
	48	13.94	0.52	0.20	0.056
	54	11.00	-	0.20	0.044
	72	9.33	0.47	0.27	0.042
	78	4.72	-	0.24	0.055
<u>Tage</u>	5	3.50	0.49	0.16	0.043
	7	3.89	0.53	0.26	0.067
	8	3.72	-	0.25	0.050
	9	3.50	0.43	0.15	0.047

Anhang 5 (zu Abbildung 8)

Verlauf der Konzentrationen (mmol/l) verschiedener Metabolite im Blutplasma nach i. v. Applikation von Szn:

Ziege Ge, 65 mg/kg KG

Zeit i. p.		Glucose	Lactat	3-HB	AcAc
Stunden	0	3.67	0.33	0.10	0.024
	2	5.39	0.52	0.15	0.025
	3	7.56	-	-	-
	4	8.28	0.49	0.20	0.033
	5	8.06	-	-	-
	6	6.72	0.54	0.21	0.039
	8	5.28	-	-	-
	10	5.72	0.49	0.15	0.030
	15	5.11	0.68	0.13	0.027
	24	4.33	0.42	0.10	0.025
	26	4.50	-	-	-
	30	4.33	-	-	-
	32	4.28	0.32	0.10	0.026
	48	4.44	0.34	0.09	0.029
	50	4.67	-	-	-
	52	6.94	-	-	-
	54	5.33	-	-	-
	56	4.22	0.27	0.14	0.029
	72	6.17	0.34	0.13	0.024
	78	5.83	-	-	-
Tage	5	6.17	0.57	0.17	0.034
	6	5.61	0.49	0.14	0.030
	7	4.72	0.39	0.19	0.034
	8	5.44	-	-	-
		6.56	-	-	-
	9	6.33	-	-	-
	10	4.33	-	-	-
	20	4.44	-	-	-
	30	5.12	-	-	-
	40	4.93	-	-	-
	50	4.51	-	-	-
	60	4.61	0.68	0.80	0.136

Anhang 6 (zu Abbildung 8)

Ziege E, 65 mg/kg KG

	<u>Zeit i. p.</u>	<u>Glucose</u>	<u>Lactat</u>	<u>3-HB</u>	<u>AcAc</u>
Stunden	0	3.72	0.52	0.18	0.020
	2	7.28	0.86	0.44	0.090
	3	8.67	-	-	-
	4	9.42	0.62	0.46	0.070
	5	9.78	-	-	-
	6	8.17	0.24	0.20	0.030
	8	4.44	-	-	-
	10	3.94	0.68	0.33	0.050
	15	2.72	0.49	0.26	0.040
	24	3.72	0.20	0.11	0.030
	26	3.72	-	-	-
	30	3.72	-	-	-
	32	3.78	0.37	0.22	0.035
	48	4.11	0.37	0.20	0.032
	50	3.94	-	-	-
	54	4.00	-	-	-
	56	4.33	0.29	0.22	0.034
Tage	4	4.22 4.28	0.33 -	0.21 -	0.033 -
	5	4.00	0.72	0.14	0.030
	7	4.00	0.35	0.14	0.032
	10	4.17 4.22	0.53 -	0.19 -	0.034 -
	20	4.28 4.33	- -	- -	- -
	30	4.51	-	-	-
	40	3.61	-	-	-
	50	3.61	0.48	0.23	0.062
	60	3.78	-	0.15	0.034

Anhang 7 (zu Abbildung 8)

Ziege K, 75 mg/kg KG

<u>Zeit p. i.</u>		<u>Glucose</u>	<u>Lactat</u>	<u>3-HB</u>	<u>AcAc</u>
Stunden	0	3.61	0.37	0.20	0.031
	2	5.17	0.51	0.25	0.075
	3	6.44	-	-	-
	4	10.33	0.67	0.47	0.042
	5	10.94	-	-	-
	6	8.22	0.61	0.16	0.035
	8	5.22	-	-	-
	10	3.22	0.68	0.22	0.035
	24	2.00	0.55	0.20	0.034
	26	1.94	-	-	-
	30	2.05	0.39	0.22	0.050
	48	7.67	0.37	0.19	0.035
	50	8.50	-	-	-
	54	8.94	-	-	-
	56	10.11	0.39	0.53	0.035
Tage	72	11.61	0.38	0.70	0.067
	5	11.22	0.51	0.67	0.071
		12.44	0.44	0.50	0.085
	7	11.61	0.42	0.71	0.110
		11.61	0.55	0.57	0.067
	9	10.83	0.43	0.59	0.090
	20	11.89	-	-	-
	40	13.33	-	-	-
		12.33	-	-	-

Anhang 8 (zu Abbildung 8)

Ziege Z, 80 mg/kg KG

<u>Zeit p. i.</u>		<u>Glucose</u>	<u>Lactat</u>	<u>3-HB</u>	<u>AcAc</u>
<u>Stunden</u>	0	4,17	0,57	0,50	0,025
	2	6,22	0,59	0,48	0,042
	3	15,00	-	-	-
	4	16,17	0,66	0,77	0,039
	5	15,06	-	-	-
	6	14,33	0,70	0,79	0,044
	8	13,67	-	-	-
	10	14,22	0,82	0,79	0,056
	24	15,89	0,61	0,69	0,050
	26	16,67	-	-	-
	30	16,39	-	-	-
	32	15,78	0,49	0,87	0,087
	48	14,83	0,42	1,70	0,200
	50	14,78	-	-	-
	52	15,94	-	-	-
	54	18,17	-	-	-
	56	17,83	0,66	1,09	0,146
	72	15,11	0,67	1,70	0,310
	78	13,33	0,69	1,70	0,309
<u>Tage</u>	5	13,61	1,13	1,60	0,300
		18,94	2,04	1,57	0,250
	7	10,61	1,28	1,70	0,260
	8	11,56	1,63	1,77	0,250
		13,89	1,73	1,76	0,250
	9	14,89	2,26	1,58	0,530
		25,83	2,53	1,89	0,590
	10	27,22	2,26	1,86	0,600
	11	31,17	2,03	-	-
		30,78	-	-	-
		29,11	-	-	-

Anhang 9 (zu Abbildung 8)

Ziege Gi, 85 mg/kg KG

<u>Zeit p. i.</u>		<u>Glucose</u>	<u>Lactat</u>	<u>3-HB</u>	<u>AcAc</u>
Stunden	0	4,22	0,41	0,21	0,030
	2	6,94	1,78	0,10	0,024
	3	9,22	1,55	0,15	0,019
	4	10,56	0,71	0,20	0,024
	5	10,56	0,38	0,27	0,031
	6	9,11	0,54	0,24	0,036
	8	7,17	0,79	0,23	0,046
	10	6,50	0,79	0,24	0,059
	15	6,11	1,02	0,21	0,050
	24	5,39	0,38	0,21	0,035
	28	5,78	0,38	0,25	0,030
	32	6,61	0,33	0,16	0,034
	48	8,39	0,59	0,20	0,060
	56	8,72	0,39	0,13	0,048
	72	9,17	0,47	0,17	0,035
	78	7,83	0,37	0,11	-
Tage	5	7,39	0,36	0,12	0,046
		5,94	0,46	0,11	0,041
	6	4,83	0,44	0,13	0,042
		4,78	0,46	0,09	0,039
	7	4,33	0,41	0,09	0,024
		4,67	0,34	0,09	0,024
	8	5,83	0,57	0,12	0,029
	9	7,11	0,42	0,13	0,034
	12	6,61	-	-	-
	13	66,17	-	-	-
	15	5,06	-	-	-
	20	4,17	-	-	-
	40	4,61	0,46	0,21	0,059
	60	4,39	-	0,19	0,040

Anhang 10 (zu Abbildung 8)

Ziege Sc, 90 mg/kg KG

	<u>Zeit p. i.</u>	<u>Glucose</u>	<u>Lactat</u>	<u>3-HB</u>	<u>AcAc</u>
<u>Stunden</u>	0	3,83	1,06	0,20	0,020
	2	5,22	-	-	-
	3	9,56	1,53	0,23	0,043
	4	12,89	1,24	0,30	0,075
	5	13,00	0,49	0,13	0,049
	6	11,89	1,15	0,21	0,085
	8	10,17	0,53	0,23	0,047
	10	8,28	0,49	0,18	0,065
	15	8,56	0,84	0,23	0,092
	24	12,17	0,62	0,19	0,083
	26	13,61	0,39	0,22	0,048
	28	14,78	0,16	0,30	0,026
	30	15,00	-	-	-
	32	15,72	0,45	0,51	0,076
	48	15,28	0,44	1,25	0,096
	50	15,78	0,49	0,79	0,238
	54	16,44	0,43	0,78	0,197
	56	15,28	0,49	1,40	0,317
	72	13,67	0,41	1,45	0,434
	78	13,44	0,38	1,63	0,503
<u>Tage</u>	5	11,67	0,33	1,80	0,564
		12,17	0,38	1,77	0,653
	6	11,83	0,42	1,67	0,691
		12,22	0,39	1,45	0,480
	7	11,11	0,42	1,79	0,703
		10,83	0,35	1,75	0,654
	8	10,33	0,35	1,72	0,658
		10,56	0,43	1,69	-
	9	7,61	-	-	-
		9,94	-	-	-
	10	8,67	-	-	-
	15	12,33	-	-	-
	20	8,33	-	-	-
		9,00	-	-	-
		9,22	-	-	-
	24	9,94	-	-	-
	26	8,50	-	-	-
	30	11,11	-	1,65	-
	34	10,67	-	-	-
	36	8,50	-	-	-
	38	7,67	-	-	-
	40	9,89	-	-	-
	50	12,61	0,38	1,70	0,672
	59	15,94	-	-	-
		16,67	-	-	-
	60	15,83	-	1,74	0,52
		15,56	-	1,73	0,50

Anhang 11 (zu Abbildung 8)

Ziege St, 90 mg/kg KG

		<u>Glucose</u>	<u>Lactat</u>	<u>3-HB</u>	<u>AcAc</u>
<u>Zeit p. i.</u>					
<u>Stunden</u>	0	4,06	0,58	0,17	0,080
	2	6,72	0,72	0,17	0,034
	3	11,33	0,94	0,20	0,061
	4	12,28	1,44	0,14	0,030
	5	10,67	1,07	0,13	0,034
	6	9,44	1,24	0,18	0,030
	8	9,39	2,01	0,18	0,032
	10	8,56	1,88	0,23	0,037
	24	15,56	0,83	0,67	0,110
	26	15,28	0,71	0,69	0,114
	28	14,28	1,94	0,58	0,096
	30	16,00	-	-	-
	32	15,94	0,67	1,10	0,196
	48	12,61	0,80	1,52	0,323
	50	13,33	0,59	1,37	0,408
	54	13,06	0,49	1,33	0,383
	56	13,00	0,65	1,50	0,386
<u>Tage</u>	72	12,61	0,42	1,80	0,522
	78	12,83	0,47	1,82	0,541
	5	13,00	0,56	1,82	0,608
		13,83	0,49	1,84	0,631
	6	12,83	0,41	1,80	0,745
		12,39	0,41	1,81	0,725
	7	12,78	0,60	1,83	0,700
		11,61	0,41	1,74	0,641
	8	10,44	0,53	1,73	0,688
		9,50	0,40	1,57	-
	9	9,67	-	-	-
		9,39	-	-	-
	10	9,78	-	-	-
	15	7,50	-	-	-
	20	11,89	-	-	-
		11,44	-	-	-
		10,56	-	-	-
	24	11,11	-	-	-
	26	11,22	-	-	-
	30	11,61	0,54	-	-
	34	11,67	-	-	-
	36	10,44	-	-	-
	40	12,11	-	-	-
	50	12,28	-	-	-
	60	12,83	0,52	1,76	0,510

Anhang 12 (zu Abbildung 8)

Ziege B, 70 mg/kg KG

<u>Zeit p. i.</u>		<u>Glucose</u>	<u>Lactat</u>	<u>3-HB</u>	<u>AcAc</u>
<u>Stunden</u>	0	3.39	0.27	0.15	0.03
	2	5.78	0.58	0.33	0.062
	3	-	0.52	0.40	0.060
	4	9.39	0.41	0.38	0.052
	5	11.17	0.45	0.35	0.065
	6	8.94	0.54	0.31	0.059
	8	-	0.45	0.25	0.048
	10	-	0.50	0.30	0.048
	15	7.00	0.71	0.26	0.040
<u>Tage</u>	2	6.11	0.39	0.12	0.030
		7.89	0.57	0.16	0.031
		10.00	0.52	0.18	0.036
	3	11.22	0.69	0.44	0.069
		10.28	0.45	0.42	0.074
	4	11.11	0.71	0.42	0.090
		11.39	0.59	0.77	0.200
	5	11.83	0.64	0.91	0.226
		11.17	0.52	1.04	0.230
	6	11.72	0.72	0.57	0.159
		10.56	0.85	0.66	0.173
	7	12.33	0.71	0.85	0.209
		9.94	0.50	0.65	0.151
	8	11.00	0.79	1.62	0.414
	11	11.83	-	1.49	0.431
	12	13.22	-	-	-
	13	11.67	0.50	1.23	0.086
	20	11.61	-	-	-
	40	12.78	0.41	1.58	0.330
	60	12.89	-	-	-
		13.33	-	-	-

6. LITERATURVERZEICHNIS

- ANNISON, E.F. u. R.R. WHITE, 1961
Glucose utiliszation in sheep.
Biochem. J. 80, 162-169
- ANNISON, E.F. u. D.G. ARMSTRONG, 1970
Volatile fatty acid metabolism and energy supply.
Physiology of digestion and metabolism in the ruminant.
In: PHILLIPSON, A.T., Newcastle, Oriel 422-437
- ANNISON, E.F., R. BICKERSTAFF u. J.L. LINZELL, 1974
Glucose and fatty acid metabolism in cows producing
milk of low fat contents.
J. agric. Sci. Camb. 82, 87-73
- ARISON, R.N., E.I. CIACCIO, M.S. GLIZER, J.A. CASSARO u.
M.P. PRUSS, 1967
Light and electron microscopy lesions in rat rendered
diabetic with streptozotocin.
Diabetes 16, 51-56
- BACH, S.J. u. K.G. HIBBITT, 1958
Biochemical aspects of bovine ketosis.
Biochem. J. 72, 87-92
- BAIRD, G.D. u. R.J. HEITZMAN, 1970
Gluconeogenesis in the cow.
Biochem. J. 116, 865-874
- BAIRD, G.D., 1977
Aspects of ruminant intermediary metabolism in
relation to ketosis.
Biochem. Reviews 5, 819-827
- BERGMAN, E.N. u. D.E. HOGUE, 1967
Glucose turnover and oxidation rates in lactating
sheep.
Am. J. Phys. 213, 1378-1384
- BERGMAN, E.N., 1968
Glycerol turnover in the nonpregnant and ketotic
pregnant sheep.
Am. J. Phys. 215, 865-873

- BERGMAN, E.N., D.J. STARR u. S.S. RENLEIN, 1968
Glycerol metabolism and gluconeogenesis in the normal and hypoglycemic ketotic sheep.
Am. J. Phys. 215, 874-881
- BICKERSTAFF, R., E.F. ANNISON u. J.L. LINZELL, 1974
The metabolism of glucose, acetone, lipids and amino acids in lactating dairy cows.
J. agric. Sci. Camb. 82, 71-75
- BROSKY, G. u. J. LOGOTHETOPOULOS, 1969
Streptozotocin diabetes in the mouse and guinea pig.
Diabetes 18, 606-611
- CHRISTENSON, R.K. u. R.L. PRIOR, 1978
Uterine blood flow and nutritiant uptake during late gestation in ewes with different number of fetuses.
J. Anim. Sci. 46, 189-194
- CREUTZFELD, W., 1949
Zur Histopathologie des Inselapparates.
Z. Zellforsch. 34, 280-287
- DUFF, G.L., 1945
The pathology of the pancreas in experimental diabetes mellitus.
Am.J. Med. Sci. 210, 381-387
- DULIN, W.E. u. B.M. WYSE, 1969
Studies on the ability of compounds to block the diabetogenic activity of streptozotocin.
Diabetes 18, 459-466
- DUNN, J.S., H.L. SHEEHAN u. H.G.B. McLEITCHIE, 1943
Necrosis of the islets of Langerhans produced experimentally.
Lancet 244, 484-490
- EVANS, J.S., G.C. GERRITSEN, K.M. MANN u. S.P. OWEN, 1965
Antitumor and hyperglycemic activity of streptozotocin.
Cancer Chemotherapy Rept. 48, 1-7
- FORD, E.J.H. u. D.B. LINDSAY, 1964
Acetate utilization and carbon dioxide production in normal and ketotic sheep pregnant with twins.
Res. Vet. Sci. 5, 161-167

FRERICHS, H. u. W. CREUTZFELD, 1969

Diabetes durch Beta-Zytotoxine.

In: PFELFFER, E.F., Handbuch des Diabetes mellitus,
Bd.1, 811-812

GANDA, O.P., A.A. ROSSINI u. A.A. LIKE, 1976

Studies on streptozotocin diabetes.

Diabetes 25, 595-603

GÜNZEL, R., 1973

Untersuchung über die Beziehung zwischen freien Fettsäuren und Glucose im Blut von Schafen und die Beeinflussung durch glucogene β -Kohlenstoffverbindungen.

Vet. med. Diss., München

GUNNARSON, R., C. BERNE u. C. HELLERSTRÖM, 1974

Cytotoxic effects of streptozotocin and n-nitroso-methyl-urea on the pancreatic B-cells with special regard to the role of NAD.

Biochem. J. 140, 487-494

HAACKE, H., 1969

Erzeugung eines Diabetes mellitus unterschiedlichen Schweregrades mittels Streptozotocin.

Klin. Wochenschr. 47, 437-443

HAGEMEISTER, H. u. J. UNSHELM, 1970

Individuelle, tages- und tageszeitabhängige Schwankungen von Blutbestandteilen beim Rind.

8. Mitteilung: Das Verhalten der Milchsäure, der Brenztraubensäure, des Harnstoffes und des Blutzuckers.

Zbl. Vet. Med. A, 13-26

HERR, R.R., I.E. EBLE, M.E. BERGY u. H.K. JAHNKE, 1960

Isolation and characterization of streptozotocin.

Antibiot. Ann. 1959-1960

New York Medical Encyclopedia Inc. 236

HERR, R.R., H.K. JAHNKE u. A.D. ARGOUDELIS, 1967

The structure of streptozotocin.

J. Am. Chem. Soc. 89, 4808-4814

HESSLER, E.J. u. H.K. JAHNKE, 1970

Improved synthesis of streptozotocin.

J. Organic Chem. 35, 245-251

HOHORST, H.J., 1970

L(+)-Lactat: Bestimmung mit LDH und NAD.

In: Bergmeyer, H.U., Methoden der enzymatischen Analyse. 3. Auflage (1974), Bd.2, 1425-1430
Verlag Chemie Weinheim/Bergstraße

HOUSE, E.L., 1958

A histological study of the pancreas, liver and kidney both during and after recovery from alloxan diabetes.

Endocrinology 62, 189-194

HOVE, K., 1974

Nocturnal plasma insulin levels in cow with varying levels of plasma ketone bodies; relations to plasma sugar and acetoacetate.

Acta Endocrinologica 76, 513-524

HOVE, K. u. K. BLOM, 1976

Plasma insulin and growth hormone concentrations in pregnant sheep.

Acta Endocrinologica 82, 544-552

HOWELL, S.L. u. M. WHITFIELD, 1972

Ultrastructural studies of the destruction of guinea pig pancreatic B-cells after injection of streptozotocin.

Horm. Metab. Res. 4, 349-354

JAKOBS, H.R., 1937

Hypoglycemic action of alloxan.

Proc. Soc. exp. Biol. Med. 37, 407

JARRETT, I.G., O.H. FILSELL u. F.J. BALLARD, 1974

Metabolic and endocrine interrelationships in normal and diabetic sheep.

Horm. Metabolic Res. 4, 111-116

JUNOD, A., A.E. LAMBERT, L. ORCI, R. PICTET, A.E. GONET u. A.E. RENOLD, 1967

Studies of the diabetogenic action of streptozotocin.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 126, 201-209

JUNOD, A., A.E. LAMPERT u. A.E. RENOLD, 1969

Diabetogenic action of streptozotocin: Relationship of dose to metabolic response.

J. Clin. Invest. 48, 2129-2139

- KANEKO, J.J., 1980
Clinical biochemistry of domestic animals.
Third Edition, Academic Press, 28
- KATZ, M.L. u. BERGMAN, E.N., 1969
Hepatic and portal metabolism of glucose, free fatty acids and ketone bodies in the sheep.
Am. J. Physiol. 216, 953-960
- KRONFELD, D.S., 1977
Hypoglycemia in ketotic cows.
J. Dairy Sci. 54, 949-952
- KUSHNER, B., M. LAZAR, M. FUMAN, T.W. LIBERMAN u. I.H. LEOPOLD, 1969
Resistance of rabbits and guinea pigs to the diabetogenic effect of streptozotocin.
Diabetes 18, 542-544
- LAZAROW, A. u. S.L. PALAY, 1946
Production and course of alloxan diabetes in the rat.
J. Lab. Clin. Med. 31, 1004-1009
- LEE, J.C. u. S.E. DOWNING, 1979
Coronary dynamics and myocardial metabolism in the diabetic newborn lamb.
Am. J. Physiol. 237, 118-124
- LITTLE, A.D., 1966
The effect of streptozotocin on the structure and function of the islets of Langerhans in the rat and hamster.
Ann. Rep. Cancer Chemo. National Service Centre, Section III Preclinical Toxicology
- LIU, M.S. u. J. J. SPITZER, 1978
Fatty acid and lactate metabolism by heart homogenates from alloxan diabetic dogs.
Horm. Metab. Res. 10, 114-117
- LOGOTHETOPOULOS, J. u. G. BROSKY, 1968
Mitotic activity of islets cells in alloxan and streptozotocin diabetic mice studied by radioautography.
Diabetes 17, 306-312

- LOMAX, M.A., G.D. BAIRD, C.B. MALLINSON u. H.W. SYMONDS, 1979
Differences between lactating and non-lactating dairy cows in concentration and secretion rate of insulin.
Biochem. J. 180, 281-289
- LUKENS, F.D.W., 1948
Alloxan diabetes.
Physiol. Reviews 28, 304-309
- MELLANBY, J. u. WILLIAMSEN, D.H., 1962
Acetoacetatbestimmung
In: Bergmeyer, Methoden der enzymatischen Analyse, 3. Auflage (1974), Bd.2, 1887-1890
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße
- OTCHERE, E.O., A.D. MCGILLARD u. J.W. YOUNG, 1974
Quantitation of a linked glucose polymers passing to the small intestine in cattle.
J. Dairy Sci. 57, 1189-1195
- PAGE, H.M., E.S. ERWIN u. G.E. NELMS, 1960
Effect of solar radiation on variations of blood constituents in cattle.
J. Dairy Sci. 43, 99-100
- PITKIN, R.M. u. W.A. REYNOLDS, 1970
Diabetogenic effects of streptozotocin in rhesus monkeys.
Diabetes 19, 85-90
- PORTER, J.W.G., 1969
Digestion in the pre-ruminant animal
Proc. Nutrition Soc. 28, 115-121
- RAKIETEN, N., M.L. RAITTEN u. M.V. NAVARNI, 1963
Studies on the diabetogenic action of streptozotocin.
Cancer Chemotherapy Rep. 29, 91-98
- REID, R.L., 1960
Studies on the carbohydrate metabolism of sheep.
Aust. J. agric. Res. 11, 364-372
- REID, R.L., N.T. HINKS u. S.C. MILLS, 1963
Alloxan diabetes in pregnant ewes.
J. Endocrin. 27, 1-19

REILLY, P.E.B. u. L.G. CHANDRASENA, 1978

Glucose lactate interrelations in sheep
Am. J. Physiol. 235, 487-492

REISINGER, H. 1968

Methodische Untersuchungen über Blutzucker und eosinophile Leukozyten beim Rind unter besonderer Berücksichtigung von Sexualzyklus, Schweregeburt und Kaiserschnitt.

Vet. Med. Diss., München

RIETSCHER, W., 1973

Untersuchungen über den Einfluß der Blutentnahmen durch Funktion der Vena jugularis auf Parameter des Blutes bei Kälbern.

Vet. Med. Diss., Gießen

ROMSOS, D.R., G-A. LEVEILLE u. G.A. ALLEE, 1971

Alloxan diabetes in the pig
Comp. Biochem. Physiol. 40, 569-578

ROSSINI, A.A., M.A. ARCANGELI, 1975

Studies of Alloxan toxicity on the beta cell.
Diabetes 24, 516-522

SACHS, L., 1972

Statistische Auswertungsmethoden
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

SCHEIN, P.S., D.A. COONEY u. M.L. VERNON, 1967

The use of NAD to modify the toxicity of Szn-diabetes without loss of antitumor activity.
Cancer Res. 27, 2324 - 2330

SCHWALM, J.W. u. SCHULTZ, L.H., 1975

Blood and liver metabolites in fed and fasted diabetic goats.
J. Dairy Sci. 59, 262-269

SMITH, R.D., W. HANSEL u. C.E. COPPOCK, 1975

Plasma growth hormone and insulin during early lactation in cows fed silage based diets.
J. Dairy Sci. 59, 248-254

SNOSWELL, A.M. u. P.P. KOUNDAKJIAN, 1972

Relationship between carnitiné and coenzyme-A ester in tissues of normal and alloxan diabetic sheep.

Biochem. J. 127, 133-141

STANGASSINGER, M. u. T. PERUCHE, 1981

Metabolism of glucose during experimental diabetes in ruminants.

In: D. GIESECKE, G. DIRKSEN u. M. STANGASSINGER
Metabolic disorders in farm animals. Proceedings of the IVth International Conference on production disease in farm animals, München 1981

STAUFFACHER, W., I. BURR, A. GUTZEIT, D. BEAVEN,

J. VELEMINSKY u. A.E. RENOLD, 1970

Streptozotocin diabetes: Time course of irreversible β -Zelldamage further observations on prevention by nicotinamide.

In: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 133, 194-201

STEEL, J.W. u. LENG, R.A., 1973

Effects of plane of nutrition and pregnancy on gluconeogeneses in sheep.

Brit. J. Nutr. 30, 475-481

STEINER, D.F., V. RAUDA u. R.H. WILLIAMS, 1961

Severe ketoacidosis in the alloxan diabetic rat.

Endocrinology 68, 809-815

TJÄLVE, H. u. E. WILLANDER, 1976

The uptake in the pancreatic islets of NAD, nicotine acid, Tryptophan and their ability to prevent Szn diabetes in mice.

Acta Endocrinol. 83, 357-364

WELLMAN, K.F., B.W. VOLK u. S.S. LAZARUS, 1967

Ultrastructural pancreatic B-cell changes in rabbits after small and large doses of Alloxan.

Diabetes 16, 242-251

WIESNER, H., 1981

Mündliche Mitteilung

WILLIAMSON, D.H., J. MELLANBY u. H.A. KREBS, 1962

3-Hydroxybutyrat-Bestimmung

In: BERGMAYER, Methoden der enzymatischen Analyse, 3. Auflage (1974), Verlag Chemie Weinheim/Bergstraße 1883-1886

ZALESKI, J.Z. u. J. BRYLA, 1978

Effect of alloxan-diabetes on gluconeogenesis
and urogenesis in isolated rabbit liver cells.

Biochem. J. 176, 563-568

Der Leitung des Instituts gilt mein Dank für die gewährten Arbeitsmöglichkeiten.

Besonders danken möchte ich Herrn Professor Dr. D. Giesecke für die Überlassung des Themas und die stets gern gewährte Unterstützung bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Dr. M. Stangassinger sei für seine Beratung bei den Tierversuchen gedankt.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei Fräulein G. Loibl und bei Frau S. Wiesmayr für ihre freundliche Hilfsbereitschaft.

LEBENS LAUF

Thomas Peruche	geb. am 20. Dezember 1950 in Boppard
Eltern	Karl Peruche, Sieglinde Peruche, geb. Busch
Familienstand	verheiratet, zwei Kinder
Schul Ausbildung	von 1957 - 1961 an der Volksschule am Paulusplatz in Düsseldorf von 1961 - 1970 an dem Städt. Humboldt- Gymnasium in Düsseldorf Reifeprüfung am 19. Juni 1970
Wehrdienst	Von 1971 - 1973
Universitäts- ausbildung	von 1973 - 1974 Studium der Chemie an der Universität Düsseldorf von 1974 - 1979 Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität, München 1979 Staatsexamen und Approbation als Tierarzt seit Oktober 1979 Doktorand bei Herrn Prof. Dr. D. Giesecke am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungspysiologie im Fachbereich Tiermedizin der Universität, München
gegenwärtige Tätigkeit	Seit 1. 7. 80 als vollbeschäftigte wissenschaftliche Hilfskraft an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Tierärztlichen Fakultät, München

